

**Strukturelle Grundlagen,
chemischer Aufbau,
Stoffwechsel und Physiologie
des Bindegewebes unter besonderer
Berücksichtigung der
Mucopolysaccharide**

Johann Grochowskyj

Druck: Anneliese Schubert, München 5, Corneliusstraße 21, Telefon 21777

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. W. SEITZ

STRUKTURELLE GRUNDLAGEN, CHEMISCHER AUFBAU, STOFF-
WECHSEL UND PHYSIOLOGIE DES BINDEGEWEBES UNTER BE-
SONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER MUCOPOLYSACCHARIDE

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig - Maximilians - Universität zu München

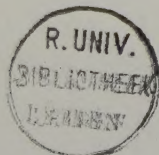
vorgelegt von

Johann Grochowskyj

geb. Rozyska /Ukraine

wohnh. Chikago/USA

München 1959



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. SEITZ

Dekan: Professor Dr. K. KOLLE

Tag der mündlichen Prüfung: 12. FEB. 1959



INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG

II. THEORETISCHES

1. Die Bedeutung der Theorie der Farben 1
2. Die Bedeutung der Theorie der Lichtstrahlung 11
3. Bedeutung der Theorie der Lichtstrahlung 16

III. EXPERIMENTELLE METHODEN UND ERGEBNISSE

1. Einleitung 21
2. Die Bedeutung der Lichtstrahlung und der Theorie der Farben 21
3. Die Bedeutung der Theorie der Lichtstrahlung und der Theorie der Farben 21
4. Die Bedeutung der Theorie der Lichtstrahlung und der Theorie der Farben 21
5. Die Bedeutung der Theorie der Lichtstrahlung und der Theorie der Farben 21
6. Die Bedeutung der Theorie der Lichtstrahlung und der Theorie der Farben 21
7. Die Bedeutung der Theorie der Lichtstrahlung und der Theorie der Farben 21
8. Die Bedeutung der Theorie der Lichtstrahlung und der Theorie der Farben 21
9. Die Bedeutung der Theorie der Lichtstrahlung und der Theorie der Farben 21
10. Die Bedeutung der Theorie der Lichtstrahlung und der Theorie der Farben 21
11. Die Bedeutung der Theorie der Lichtstrahlung und der Theorie der Farben 21
12. Die Bedeutung der Theorie der Lichtstrahlung und der Theorie der Farben 21
13. Die Bedeutung der Theorie der Lichtstrahlung und der Theorie der Farben 21

MEINER MUTTER GEWIDMET

IV. ZUSAMMENFASSUNG

V. LITERATURVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. GESCHICHTLICHES	6
II. ALLGEMEINER TEIL	8
1. Die morphologische Struktur der Fasern	9
2. Der chemische Aufbau der Grundsubstanz	11
3. Stoffwechsel und Physiologie der Interzellulärsubstanzen	16
III. SPEZIELLER TEIL: DIE MUCOPOLYSACCHARIDE	24
1. Einleitung	24
2. Der Gehalt des Bindegewebes und der anderen Stützsubstanzen an Mucopolysacchariden und ihre Bedeutung	25
3. Die Bindung zwischen Polysaccharid und Eiweiß	27
4. Der Stoffwechsel der Mucopolysaccharide	29
5. Der histochemische Nachweis der Mucopolysaccharide	31
6. Chondroitinschwefelsäure	32
7. Hyaluronsäure	34
8. Mucoitinschwefelsäure (Hyaluronschwefelsäure ?)	35
9. Heparin	36
10. Keratoschwefelsäure	39
11. Sialinsäure bzw. Neuraminsäure	40
12. Spreading-Faktor - Hyaluronidase	41
IV. ZUSAMMENFASSUNG	45
V. LITERATURVERZEICHNIS	47

STRUKTURELLE GRUNDLAGEN, CHEMISCHER AUFBAU, STOFF- WECHSEL UND PHYSIOLOGIE DES BINDEGEWEBES UNTER BE- SONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER MUCOPOLYSACCHARIDE.

I. GESCHICHTLICHES

BICHAT (78) erkannte 1799 in seiner fundamentalen "Lehre von den Geweben" bereits die Bedeutung des Bindegewebes. Der Ausdruck "Bindegewebe" wurde erstmals von JOHANNES MÜLLER (79) 1830 geprägt und fand übersetzt Eingang in alle Sprachen der Welt. Wie auf vielen anderen Gebieten, so machte VIRCHOW (80) auch hier eine Reihe von grundlegenden Beobachtungen über das Verhalten des Bindegewebes. Er faßte die Mesenchymzelle als eine multipotente Einheit auf, welche proteusartig bald zur Knochen- oder Knorpelzelle, bald zur Entzündungs- oder Speicherzelle wird. Die interzelluläre Substanz war in seinen Augen von hochkomplizierter, chemischer Struktur, deren intime Beschaffenheit mannigfaltigen, physiologischen und pathologischen Einflüssen ausgesetzt ist. - Während der folgenden 50 Jahre konzentrierte sich das Augenmerk der Morphologen und Physiologen auf die Zelle und nur selten wurde der Interzellulärsbstanz die ihr zukommende Beachtung geschenkt. FLEMMING (81) gelang es jedoch 1876 erstmals, die Bindegewebsfibrille durch eine neue Färbemethode deutlich von der Kittsubstanz abzutrennen. Es war zweifellos das Verdienst von SCHADE (82), daß zu Beginn der Zwanziger Jahre das Interesse der Ärzte und Biologen wieder auf das Bindegewebe gelenkt wurde. Er erkannte den Organcharakter des Bindegewebes und seine Ausführungen darüber waren so grundlegend, daß sie noch immer den Ausgangspunkt zu jeder Diskussion über das Mesenchym und dessen Funktion bilden.

Von ganz anderer Seite trat EPPINGER (83) an das Problem heran. Für ihn lag im Bindegewebe das Substrat der "serösen Entzündung", des ersten Stadiums der meisten reaktiven, pathologischen Vorgänge. KLINGE (84) analysierte die Morphogenese der rheumatischen Erkrankungen und wies darauf hin, daß es sich hierbei primär um eine Al-

teration der Bindegewebssubstanz handelt. Auf dieser Grundlage entwarf er die Hypothese, daß der Rheumatismus eine Erkrankung des Mesenchyms sei, eine Affektion des Bindegewebsorgans. Die Schöpfung des Begriffes "collagen diseases" durch KLEMPERER (85) führte zu einer Popularisierung dieser Anschauungen, aber auch zu einer Verwirrung der Begriffe, da es wohl keine ausschließlichen Krankheiten des Kollagens, der Interzellulärsubstanz oder der Fibroblasten geben dürfte. Immer sind alle drei Komponenten betroffen (86). Schon dies deutet auf die engen wechselseitigen Beziehungen hin, die offenbar für das Bindegewebe von größter Bedeutung sind.

II. ALLGEMEINER TEIL

Das Bindegewebe hat seinen Ursprung im embryonalen Mesenchym, wie auch die anderen Stützsubstanzen des Körpers, Knorpel und Knochen. Genauso wie das Mesenchym selbst aus sternförmigen, mehr oder weniger innig miteinander verbundenen Zellen und einer gallertigen Grundsubstanz besteht, so sind auch all seine Abkömmlinge durch den Besitz reichlicher Interzellulärsubstanzen ausgezeichnet. Diese Interzellulärsubstanzen zerfallen in den sogenannten amorphen Anteil, die Grundsubstanz und in kollagene, sogenannte retikuläre und elastische Fasern. Auf dem interzellulären Anteil beruhen die Eigenschaften des Stützgewebes: Druck- und Zugfestigkeit, sowie Elastizität.

Die Fasern, bzw. Fibrillen liegen in einer elektronen-optisch amorphen oder granulierten Matrix, der Grundsubstanz eingebettet. Die Menge dieser Grundsubstanz ist bei den einzelnen Interzellulärsubstanzformen verschieden und ändert sich mit dem Alter, genauso wie ihre morphologische und chemische Beschaffenheit. Die Unterteilung der Interzellulärsubstanzen in Grundsubstanz und Fasern ist vielleicht eine etwas willkürliche, nachdem gezeigt werden konnte, daß im submikroskopischen Bereich eine scharfe Grenze zwischen den beiden Anteilen nicht gezogen werden kann (1).

Als Medien des extravasalen Stoffwechsels, den Zellen einerseits und den Blut- und Lymphbahnen andererseits, sind die interzellulären Substanzen und Strukturen eine überaus wichtige materielle Grundlage des Stoffwechsels. Diese Stoffvermittlung wird durch Diffusion geregelt. Die Grundsubstanz ist kolloidaler Struktur und befindet sich in einem Zwischenstadium zwischen Gel und Sol. Die Hydrophilie dieser Substanzen führt zu einer raschen Anziehung von Wasser und Salzen und erlaubt eine rasche Verschiebung dieser Komponenten in der Richtung des Diffusionsgefälles. Die enorme Oberfläche der Kolloide bedingt nicht nur die Fähigkeit, Wasser und Elektrolyte zu verschieben, sondern dieselben auch zu speichern. Es sei hier nur die Ausdehnung des extrazellulären Raumes bei den verschiedenen Ödemkrankheiten und

die Kontraktion desselben bei der beginnenden Diurese nach Digitalisierung oder Verabreichung von organischen Quecksilberpräparaten erwähnt. Vielleicht ist sogar eine abnorme Salz- und Wasserspeicherung im Bindegewebe die primäre Manifestation ödematöser Zustände. Damit wird das Bindegewebe zu einem Träger des inneren Milieus und zu einem Regulator der Haemostase. Die Aufnahme und Abgabe von Wasserstoffionen und Elektrolyten im Bindegewebe, sowie im Knochen und Knorpel spielt ferner eine wichtige Rolle bei der Säure-Basen-Regulation. Hier liegen die ersten Pufferstationen, die bei akuten Änderungen vielleicht die der Niere und des Blutes an Kapazität und Regenerationsfähigkeit sogar noch übertreffen.

1. Die morphologische Struktur der Fasern

Die Feinstruktur der Fasern wurde durch die Elektronenmikroskopie weitgehend aufgeklärt (2 - 9). Die Einheit aller kollagenen und retikulären Fasern ist eine charakteristische kollagene Mikrofibrille von einem Durchmesser von $300 - 2000 \text{ \AA}$ je nach Alter, Art und Funktionszustand der Gewebe (3). Die Länge kann im Elektronenmikroskop nicht bestimmt werden. Charakteristisch ist eine Folge von dunkleren und helleren Querbändern. Jede Periode aus je einem dunkleren und helleren Querband ist im Durchschnitt $640 \text{ \AA}$ lang. Durch dieses Maß unterscheiden sich die Fibrillen der Kollagengruppe im ganzen Tierreich von anderen Proteinfibrillen, wie z.B. den Fibrin- und Chitinfasern (10). Dieselben Mikrofibrillen, die das Fasersystem bilden, kommen jedoch auch als solitäre Elemente in der Grundsubstanz der Bindegewebe regelmäßig vor und bilden hier ein mehr oder weniger dichtes Gitter (11).

Die periodische Struktur der Mikrofibrillen muß als Ausdruck einer gewissen Anordnung der kollagenen Makromoleküle und letzten Endes auch der Struktur des Moleküls selbst betrachtet werden (2). Auf Grund polarisationsmikroskopischer und röntgenspektographischer Untersuchungen steht fest, daß die Mikrofibrille aus kristallgitterähnlich angeordneten Polypeptidketten besteht, jedoch scheinen auch weniger geordnete Anteile in diesem System vorhanden zu sein (12).

Die elektronenmikroskopische Strukturforschung sucht durch Zergliederung der Mikrofibrillen die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Kollagens zu erforschen (6, 13). Durch Beschallung konnten Fibrillen in Filamente von ca. 150 Å Durchmesser und in noch kleinere Bestandteile zerlegt werden (1).

Bei Aufteilung der Fibrillen mittels Quellung in verdünnten Säuren und Alkalien erhält man über größere und kleinere, noch quergebänderte, sogenannte taktoide Teile, dieselben kleinen Einheiten, wie durch mechanische Zersplitterung. Löst man die Fibrillen in verdünnter Essigsäure weitgehend auf, so zeigt der getrocknete Rückstand der Kollagenlösung im Elektronenbild eine Masse kleiner Partikel (6, 14), welche den durch mechanischen Abbau erzielten Elementen ähnlich sind. Die Untersuchung der Kollagenlösung selbst mit physikalischen Methoden durch BOEDTKER-DOTY (15) hat ergeben, daß die darin vorkommenden Teilchen 14 Å dicke und 2900 Å lange Stäbchen mit einem Molekulargewicht von 30 000 sind. Die Kollagenlösung scheint demnach eine makromolekulare Lösung zu sein. Das von SCHMITT-GROSS-HIGHBERGER (16 - 18) gefundene Tropokollagen dürfte eine solche bei graduellem Abbau der Mikrofibrillen auftretende Untereinheit sein.

Aus der sauren Kollagenlösung können durch Zugabe von Neutralsalzen oder durch Erhöhung des pH auf 5,8 quergebänderte Mikrofibrillen wiedergewonnen werden (14). Wenn durch Pepsinzusatz zu der Kollagenlösung nur eine partielle Hydrolyse der Kollagenmoleküle erreicht wird, kann die Wiederherstellung der Fibrillen auf Stufen festgehalten werden, die den vorher erwähnten Teilprodukten ähnlich sind (19). Eine ähnliche Hemmung der Wiederherstellung der Fibrillen konnte nach Bestrahlung der Lösung mit γ -Strahlen in hohen Dosen erreicht werden (20).

Einen weiteren Einblick in die Struktur der Mikrofibrillen hat das elektronenmikroskopische Studium der Entwicklung kollagener Fasern in der Gewebekultur (12, 21), im embryonalen (21, 22) und im regenerierenden Bindegewebe (23) ergeben. Die aktive Beteiligung der Fibroblasten an der Genese der Fibrillen kann als sicher gelten. Die

jüngsten, feinen Mikrofibrillen mit einem Durchmesser von 150 - 200 Å weisen keine regelmäßige Querstreifung auf. Es handelt sich dabei sicher nicht um reife kollagene Fibrillen, sondern um Vorstufen derselben. Sie wurden von WASSERMANN(1) als Primärfibrillen bezeichnet. Es wurde gefolgert, daß sich die Primärfibrillen als Bausteine der Mikrofibrillen außerhalb der Zellen zusammenschließen und einen Reifungsprozeß durchmachen (23). Im regenerierenden Sehngewebe der Ratte konnten solche fibrillären Produkte an der Oberfläche der Fibroblasten beobachtet werden. Aber auch am Kern und zuweilen auch eindeutig intrazellulär findet man erste fibrilläre Bildungen. Von WASSERMANN (6) wurde postuliert, daß während der Fibrillenbildung nucleoläre Substanzen in das Cytoplasma ausgeschieden werden. Im embryonalen Bindegewebe des Hühnchens konnte eine solche intrazelluläre Entstehung der Primärfibrillen elektronenoptisch dargestellt werden (24), während dies in anderen Fällen, bei jungen, rasch wachsenden Tieren, wo zweifellos Fibrillen gebildet werden, nicht beobachtet werden konnte (11, 23). Es scheint daher die Annahme berechtigt, daß die Zelle unter gewissen Bedingungen ausschließlich kleinere, submikroskopische Bausteine der Fibrillen ausscheidet, vielleicht die kollagenen Moleküle selbst, wie sie in der Kollagenlösung vorhanden sind (1).

2. Der chemische Aufbau der Grundsubstanz

Die Grundsubstanz des Bindegewebes enthält also ein amorphes Material, welches von DORFMAN-MATHEWS (25) als Prokollagen bezeichnet wird. Dieses Prokollagen in engerem Sinne geht mit schwacher Säure in Lösung, aus welcher es als Kollagenfibrillen wieder regeneriert werden kann. Diese regenerierten Fibrillen sind elektronenmikroskopisch echtes Kollagen mit deutlicher Querstreifung. Wenn man Kollagen und Prokollagen mit Trypsin abbaut, und die Spaltstücke elektrophoretisch trennt, bekommt man in beiden Fällen die gleichen Produkte (26). Unterschiede bestehen jedoch hinsichtlich der Kohlenhydratgruppierung. Außerdem löst sich Prokollagen in allen Mitteln, welche Wasserstoffbrücken sprengen, vollkommen auf (Harnstoff, Phenol, Lithiumjodid, Thioharnstoff etc.). Kollagen tut dies jedoch nicht. Man kann aus ihm je nach Alter 3 - 15% lösliches Kollagenmaterial heraus-

lösen. Es muß also im reifen Kollagen noch eine zusätzliche Verfestigung, eine Quervernetzung da sein, welche im Prokollagen fehlt. Vielleicht handelt es sich dabei um eine Esterbildung (26). Prokollagen enthält die Kohlehydrate Glucose, Mannose und wahrscheinlich Galactose, jedoch sicher kein Glucosamin (26).

Neben dem Prokollagen gehören zu den charakteristischen Bestandteilen der kolloidalen Grundsubstanz ihre Mucopolysaccharide, die Hyaluron- und Chondroitinschwefelsäuren (27, 32 - 36). Ihnen stehen spezifische Fermente, die Hyaluronidasen gegenüber, sodaß man mit einem Hyaluronsäure-Hyaluronidase-System rechnen kann (28). Art und Menge der Mucopolysaccharide, sowie ihr Polymerisationsgrad bestimmen den Charakter der Grundsubstanzen, besonders in Hinblick auf Festigkeit, Wasserbindungsfähigkeit und Permeabilität (29 - 31).

Die Mucopolysaccharide lassen sich färbereich im Gewebeschnitt durch ihre metachromatische Reaktion mit gewissen Farbstoffen wie Toluidinblau sowie durch die HOTCHKISS-Reaktion (Behandlung mit Perjodsäure und SCHIFFschen Reagens) darstellen. Man kann sich daher über Schwankungen im Gehalt und der Beschaffenheit der Mucopolysaccharide auf histochemischem Wege unterrichten.

Der Zusammenhalt zwischen fibrillären Elementen und der Grundsubstanz wird durch die Menge der Grundsubstanz bestimmt. Je leichter sich nämlich die Komponenten der Interzellulärsubstanzen durch Beschallung voneinander trennen lassen, desto weniger Grundsubstanz ist vorhanden. Am leichtesten gelingt diese Trennung beim reifen Sehnenkollagen des erwachsenen Menschen (37). Die Verfolgung der Entwicklung einer solchen Sehne zeigt, daß sie das Endstadium eines histologisch, elektronenoptisch und chemisch faßbaren Differenzierungsprozesses darstellt (37, 38).

Die Sehne des Keimlings enthält nur wenige, äußerst dünne Fibrillen, deren Querstreifung kaum zu erkennen ist. Dafür findet man reichlich amorphe Grundsubstanz, welche nicht nur jede Fibrille umhüllt, sondern auch interfibrillär als Klümpchen angetroffen wird. Eine solche Sehne weist einen hohen Gehalt an Mucopolysacchariden auf, welche

in der Grundsubstanz lokalisiert sind, wie histochemisch nachgewiesen werden konnte. Mit zunehmendem Alter des Gewebes nimmt die Grundsubstanz ab, wobei vor allem der Anteil an den Mucopolysacchariden zurückgeht. Mit der Abnahme der Grundsubstanz geht eine Vermehrung und Dickenzunahme der Fibrillen einher, was auf eine vermehrte Bildung und Anreicherung von Skleroproteiden schließen läßt. In der angereiften Sehne sind histologisch keine Mucopolysaccharide mehr nachweisbar und die Skleroproteide beherrschen das Bild auch in der amorphen Grundsubstanz. Mit diesen Veränderungen geht eine Differenzierung der Sehnenfibrille einher.

Dieser für das Sehnengewebe aufgezeigte Differenzierungsmechanismus verläuft im Prinzip bei allen Bindegewebsformen gleich. Jedoch ist die jeweils von den einzelnen Bindegewebsformen erreichte Endstufe der Differenzierung, sowie der Zeitpunkt der Enddifferenzierung verschieden.

Das embryonale und jugendliche Bindegewebe ist also besonders reich an Mucopolysacchariden. In diesem Zustand ist es noch wenig polymerisiert (30). Menge und Verkettung der Mucopolysaccharide können durch Hormone, besonders die der Geschlechtsdrüsen, aber auch der Schilddrüse, der Nebenniere (Cortison) und Hypophyse (Wachstumshormon) stark beeinflußt werden (6). Wenn es z.B. beim Makakusaffen am Ende des ovariellen Zyklus zum rapiden Zusammenbruch der Grundsubstanz, die sich an gewissen Stellen der Haut sehr reichlich angesammelt hat, kommt, findet eine Resorption der Mucopolysaccharide in großem Ausmaß statt (40). Dies ist ein extremer Fall, der jedoch vielleicht seine Parallele im gewöhnlichen Stoffwechsel des Bindegewebes hat (30).

Auch die amorphe Grundsubstanz wird von den Zellen des Bindegewebes gebildet. Der Nachweis von metachromatischen und HOTCHKISS-positiven Granula in den Gewebsfibroblasten (30) und in der Kultur (41), ihre vermehrte Anwesenheit in den Geweben mit jugendlicher Grundsubstanz (30), sowie der Nachweis, daß die Fibroblasten in der Kultur tatsächlich Mucopolysaccharide produzieren (42), all dies berechtigt zu dem Schluß, daß auch im Körper die Mucopoly-

saccharide (43) und vielleicht auch die Hyaluronidasen von den Fibroblasten hervorgebracht werden. Damit sind diese Zellen als Produzenten sowohl des Kollagens als auch des prokollagenen Materials wie auch wesentlicher Anteile der Grundsubstanz zu betrachten: Die Fibrillenbildung und die Grundsubstanzbildung scheinen miteinander vergesellschaftet zu sein.

ALTSCHULER-ANGEVINE (39) nehmen dagegen als Bildungsort der Polysaccharide die Grundsubstanz selber an. Sie sehen in den Polysacchariden Hyaluronsäure, Hyaluronschwefelsäure und Chondroitinschwefelsäure eine Endstufe des glykolytischen Stoffwechsels der Bindegewebszellen.

Nach HOLMGREEN (35) sind speziell für die Bildung von Polysacchariden die Mastzellen verantwortlich. Der Nachweis der Heparinnatur der Mastzellengranula konnte 1937 von JORPES-HOLMGREEN-WILANDER (44) erbracht werden. Von ASBOE-HANSEN (45) wurde dann später postuliert, daß die Mastzellen außer dem Heparin auch Hyaluronsäure produzieren sollen, was jedoch von JORPES entschieden bestritten wird (46). Gegen eine solche Auffassung spricht auch, daß die Mastzellengranula von Hyaluronidase nicht angegriffen werden (55). Auf jeden Fall besteht jedoch eine Beziehung der Mastzellen und ihrer Granula zur Bildung bestimmter Teile des Bindegewebes. Beim Menschen fand SYLVÉN (36) eine Vermehrung der Mastzellen und der metachromatischen Substanzen bei allen Prozessen, welche mit Bindegewebsneubildung einhergehen (Organisation von fibrinösen Exsudaten, Thromben, Ulcera ventriculi). Die Mastzellen sollen dabei metachromatische Substanzen vom Typus des Heparins liefern, welche bei der Entstehung jungen Bindegewebes Verwendung finden (36, 47). Außerdem konnte eine sehr starke Mastzellenreaktion nach Pinselung weißer Mäuse mit Methylcholantren beobachtet werden (56), was als Ausdruck der Abwehrreaktion des Organismus gewertet wird. Diese Mastzellenreaktion ist jedoch keineswegs spezifisch für carcinogene Substanzen, sondern läßt sich auch durch Injektion von Terpentin und Protamin auslösen (57). LARSSON-SYLVÉN (58) beobachteten außerdem bei Mäusen eine Abgabe der Mastzellengranula nach Bepinselung mit Benzol, nicht jedoch nach Alkohol, Aether und Aceton. Sie denken dabei an eine entgiftende Funktion.

In Kollagenlösungen, welche aus der Dura Neugeborener hergestellt wurden, lassen sich durch Zugabe von Mucoproteinen und Mucopolysacchariden kollagene Fasern ausfällen, die nach MORRIONE (48) weder histochemisch, noch elektronenoptisch von echten Kollagenfasern zu unterscheiden sind. Es wird darin ein Hinweis gesehen, daß an der Bildung von Kollagenfasern nicht nur die Fibroblasten, sondern auch Anteile der Grundsubstanz beteiligt sind (48).

Wenn man auch noch nicht ganz sicher beweisen kann, daß die Mucopolysaccharide an der Bildung von kollagenen Fasern beteiligt sind, so steht doch fest, daß sie die Kittsubstanz liefern, wahrscheinlich in Verbindung mit einem Protein. Sie läßt sich beim Zerfasern von Sehnen darstellen und durch Extraktion mit Salzen oder durch Behandlung mit Trypsin entfernen. Im Elektronenmikroskop läßt sich zeigen, daß eine Kittsubstanz auch noch zwischen den Mikrofibrillen vorhanden ist (6). Sie hat eine enge Beziehung zu den Fibrillen und scheint unter Beteiligung reaktiver Gruppen an der Oberfläche der Fibrillen von diesen eine Struktur aufgeprägt bekommen zu haben.

Man kann somit sagen, daß ein Teil der Grundsubstanz in Form von Kittsubstanz in die Fasern eingelagert ist. Es ist wahrscheinlich, daß die Menge freier Kittsubstanz mit zunehmender Faserbildung geringer wird (49). Darüber hinaus besteht die Möglichkeit, daß die Mucopolysaccharide am Aufbau der Mikrofibrillen beteiligt sind. Eine Reihe von Autoren haben sich auf Grund von chemischen Untersuchungen des Bindegewebes für die Existenz eines Mucopolysaccharid-Kollagen-Komplexes ausgesprochen (50 - 54). Hiergegen muß jedoch der geringe Kohlenhydratgehalt von gereinigtem Kollagen eingewendet werden (18).

Die Kittsubstanz zwischen den Mikrofibrillen enthält ihrer Herkunft gemäß auch Prokollagen. Damit ist sie eine Quelle für den Zuwachs, den die Mikrofibrillen mit dem Wachstum der Bindegewebsstrukturen erfahren, namentlich unter vermehrter mechanischer Beanspruchung (3, 12). Ob aus diesem Material auch ganz neue Mikrofibrillen hervorgehen können, läßt sich aus Mangel an Beobachtung noch nicht sagen. Die Kittsubstanzen dürften, ähnlich wie die Grundsubstanzen, in ihrer Zusammensetzung und Beschaffenheit variieren. Die Kittsubstanz

der Retikulinfasern scheint jedenfalls von der der reifen Kollagenfasern verschieden zu sein (6). Eine Kittsubstanz liegt auch zwischen den Mikrofibrillen des Knochengewebes vor. In ihr findet man die Knochenmineralien in Form von Apatitkristallen eingelagert (59, 60).

Zusammenfassen kann gesagt werden, daß die Fibrillen aus der Kittsubstanz Zuwachs erfahren können (3, 12). Umgekehrt kann bei der Auflösung von Fasern, welche unter physiologischen Bedingungen in großem Umfang vor sich gehen kann (Involution des Uterus post partum, Stroma wachsender Organe), Kollagenes Material in die Kittsubstanz übergehen (1). Daraus ergibt sich eine enge dynamische Beziehung zwischen den Strukturen des Bindegewebes und der dazwischenliegenden amorphen Grundsubstanzen. Die Unterscheidung zwischen den beiden Bestandteilen der interzellularen Substanzen, der Grundsubstanz und den Fasern, wird damit im Bereich der durch das Elektronenmikroskop zugänglich gewordenen Größenordnung oft fließend und unbestimmt.

3. Stoffwechsel und Physiologie der Interzellulärsubstanzen

Auf Grund seiner morphologischen Eigenschaften und chemischen Zusammensetzung überrascht es nicht, daß das Bindegewebe auch stoffwechselmäßig eine einzigartige Stellung unter den Organen und Geweben einnimmt (siehe auch Seite 9). Was den Energiestoffwechsel betrifft, so zeigt sich, daß das Bindegewebe nach Analyse von DICKENS und Ma. (90) sowie LIPMANN (91) zu jenen Organen gehört, die auch in Anwesenheit von Sauerstoff ihre Energie vorwiegend aus der Glykolyse beziehen. Interessanterweise kommt es auch bei entzündlichen Veränderungen in anderen Organen zu einer gesteigerten Glykolyse und vermehrtem Mucopolysaccharidgehalt (92). Vermehrt treten diese Mucopolysaccharide auch dann auf, wenn infolge einer Stoffwechselsituation der glykolytische Stoffwechsel der Bindegewebszellen vermehrt ist (39). Das ist dann der Fall, wenn die Sauerstoffversorgung des Gewebes von Natur aus gering ist, oder akut aus irgend einem Grunde mehr oder weniger akut vermindert ist. Dies trifft einmal für die bradytrophen Gewebe zu, welche nicht mit Kapillaren

versorgt werden (Knorpel, Cornea, Aorta). Als Beispiel für einen gestörten Stoffwechsel können Entzündung und Narbenbildung gelten. Dabei kommt es im ersten Stadium ebenfalls zu einer Vermehrung der Mucopolysaccharide (39).

In den letzten Jahren wurde wiederholt beobachtet, daß Knorpel Sulfationen aktiv aufzunehmen vermag und dieser Transfer an energieliefernde Vorgänge gebunden ist. Zur Zeit liegen noch nicht genügend Untersuchungen vor, um daraus weitgehende Schlüsse zu ziehen. Dasselbe gilt auch für die große Zahl der Untersuchungen über den Intermediärstoffwechsel der Mucopolysaccharide des Bindegewebes, der sich erst langsam abzuzeichnen beginnt (93 - 96).

Der Stofftransport in den Stützsubstanzen erfolgt über die Grundsubstanz-Zellgrenzen und die Kittsubstanz-Mikrofibrillengrenzen. Der Stoffwechsel des kollagenen Materials im Bindegewebe vollzieht sich in der interfibrillären Kittsubstanz. Obwohl der Stoffwechsel des Kollagens relativ sehr träge ist (61), so findet doch ein steter Wechsel der Bausteine statt.

Unter konstanten Stoffwechselbedingungen weist das Bindegewebe und im Besonderen die kollagene Faser eine bemerkenswerte in vivo Stabilität auf. Gewisse physiologische und pathologische Zustände bewirken jedoch eine rasche Auflösung. Das Trockengewicht der kollagenen Faser besteht zu 90% aus Eiweißkollagen, welches ein sehr stabiles Material darstellt. Dies beweist schon die außerordentlich niedrige Umsatzrate, wie NEUBERGER-SLACK (62) an Hand von Isotopenuntersuchungen feststellen konnte. Dagegen kommt es im Uterus im Verlauf der Schwangerschaft und post partum zu einer außerordentlich starken Schwankung des Kollagengehaltes (63). In ähnlicher Weise verschwindet bei der Schilddrüsenhyperplasie der Ratte nach Thiourazilverabreichung das vermehrte Kollagen rasch, wenn Thiourazil der Diät nicht mehr zugesetzt wird (64). Auch bei der experimentellen Lebencirrhose wird ein ziemlich rascher Kollagenverlust beobachtet, wenn das Cirrhose erzeugende Agens im noch reversiblen Stadium entzogen wird (65).

Die Stabilität des Kollagens in vivo konnte von GLYNN-READING (66) an homologen Kollagentransplantaten demonstriert werden. Diese sind auch nach einem Jahr im Wirtsorganismus praktisch unverändert erhalten. Diese Resistenz des Kollagens dürfte durch seine Resistenz gegenüber der tryptischen Verdauung bedingt sein. Natives Kollagen wird durch Fermente tierischen Ursprungs im ph-Bereich des Bindegewebes normalerweise nicht angegriffen. Fermente mit trypsinartigen Eigenschaften sind im Plasma und im entzündlichen Exsudat von allen bisher untersuchten Säugetieren nachgewiesen worden (67), bei den meisten Tieren müssen diese Fermente aber erst aktiviert werden. Es ist daher naheliegend, daß Mittel, welche das Kollagen der Trypsinverdauung zugänglich machen, auch seine Resistenz gegen Absorption im Wirtsorganismus vermindern, vermutlich dadurch, daß sein Zustand so verändert wird, daß den zirkulierenden Fermenten ein Angriff ermöglicht wird. Die Frage der Stabilität des Kollagens in vivo ist daher zumindest teilweise eine Frage seiner Resistenz gegen trypsinartige Fermente. Es ist vielleicht möglich, daß unter ganz bestimmten Bedingungen das ph der Gewebsflüssigkeit soweit abfallen kann, daß die katheptischen Fermente aktiviert werden. Dies ist jedoch unwahrscheinlich. Viel wahrscheinlicher ist es, daß der Kollagenabbau von der Entfernung oder der Hemmung bestimmter Substanzen abhängig ist, welche für eine Fermentfestigkeit verantwortlich sind.

Natives Kollagen ist ja keine einheitliche chemische Verbindung, sondern ein komplexer Verband makromolekularer Substanzen (15). Mindestens zwei Komponenten können im Autoklaven leicht getrennt werden (66). Eine, vermutlich aus den Fasern selbst stammende, geht als Gelatine in Lösung. Die andere, möglicherweise aus der interfibrillären Kittsubstanz stammend, bleibt als Rückstand zurück. Dieser besteht aus Elastin, Polysacchariden und Eiweiß. Das Eiweiß ist durch einen hohen Tyrosingehalt gekennzeichnet (68, 69), welcher um ein Vielfaches höher ist, als im nativen und gereinigten Kollagen, welches nur sehr wenig, vielleicht überhaupt kein Tyrosin enthält.

HARKNESS und Ma. (77) haben aus Bindegewebe 3 Fraktionen isoliert, je nach Löslichkeit in alkalischen oder sauren Puffern. Eine alkalilösliche Fraktion wird durch Extraktion mit Phosphatpuffern bei

ph = 9,0 erhalten. Eine säurelösliche Fraktion kann durch Extraktion des Rückstandes mit verdünnter Essigsäure oder Citratpuffer bei ph = 3,8 gewonnen werden. Der unlösliche Rückstand wird als reifes Kollagen bezeichnet. Alle 3 Arten zeigen das gleiche charakteristische elektronenmikroskopische Bild, es sind aber kleine Unterschiede in ihrer chemischen Zusammensetzung nachgewiesen worden. Säurelösliches Kollagen ergibt nach Fällung mit 5%iger Salzlösung einen dichten fasrigen Filz. Gefriergetrocknete Stücke wurden von GLYNN und Ma. (66) Kaninchen subcutan implantiert. Nach 4 Wochen zeigte sich eine Größenabnahme. Dieses säurelösliche Kollagen ist jedoch ebenso wie das native in vivo gegenüber Trypsin resistent. Nach Inkubation in einer starken Trypsinlösung bei ph = 8,0 waren nach 8 Tagen erst 5% des Ausgangsmaterials abgebaut.

Nach Untersuchungen von BOWES (69) erscheint es möglich, daß die Resistenz von gefälltem Kollagen gegenüber Trypsin auf der Anwesenheit eines tyrosinhaltigen, polysaccharidreichen Mucoproteins zurückzuführen ist. CONSDEN-BIRD (70) haben ausführliche Studien über die extrahierbaren Polysaccharide des Bindegewebes angestellt. Sie extrahierten menschliches, subcutanes Bindegewebe, welches frei von Fett und wasserlöslichen Bestandteilen war, mit n/5 KOH bei 0° 14 Tage lang. Bei dieser Temperatur wird nur wenig Kollagen extrahiert. 75% der extrahierten Substanzen waren in Essigsäure unlöslich. Die übrigen 25% des alkalischen Extraktes waren in Essigsäure und Wasser löslich. Papierchromatische und elektrophoretische Untersuchungen zeigten, daß beide Fraktionen Proteine und Polysaccharide enthielten, und daß die säurelösliche Fraktion einen höheren Polysaccharidgehalt aufwies, nämlich mindestens 10%. Beide Fraktionen enthielten wenigstens 3 Säurepolysaccharide, von denen keines mit Knorpelchondroitinsulfat identisch war. Durch Hydrolyse wurden Mannose, Galaktose und Hexosamin als Bestandteile freigesetzt. Galaktose war die vorherrschende Hexose. Andere Zucker waren nur in sehr kleinen Mengen vorhanden. Uronsäure nur in Spuren. Von den 3 Polysacchariden waren 2 metachromatisch und zeigten elektrophoretisch mäßig bis starke elektronegative Ladung. Das deutet auf die Anwesenheit von sauren Sulfatgruppen hin. Das Protein in diesen alkalischen Extrakten enthielt wenig Kollagen, aber relativ viel Thyrosin und Leucin.

Die beträchtliche Einschmelzung der säurelöslichen Kollagenstücke 4 Wochen nach Implantation deutet darauf hin, daß die in vivo Stabilität nicht nur auf die Resistenz gegenüber Trypsin zurückgeführt werden kann, da diese Form des Kollagens sich ja in vitro in hohem Maße als fermentresistent erwies. Auf Grund der bisherigen Befunde kann daher geschlossen werden (66), daß die Mucoproteide, die im nativen Kollagen in kleinen Mengen in Form von säurelöslichen Komponenten vorhanden sind, für die Resistenz des Kollagens gegen Trypsin verantwortlich sind. Sie spielen vermutlich eine wichtige Rolle bei der Vernetzung (71). Die Versuche von JACKSON (87) stützen diese Auffassung. Er wies nach, daß die Löslichkeit der Rattenschwanzsehne in 0,4%iger Essigsäure rund viermal so groß ist, wenn dieselbe einige Tage mit Hyaluronidase vorbehandelt wurde. Die verminderte Stabilität des säurelöslichen Kollagens in vivo kann sehr wohl der Ausdruck einer quantitativen und vielleicht auch qualitativen Resistenzminderung sein. Die Leichtigkeit, mit der dieses lösliche Kollagen in Gelatine verwandelt werden kann - durch Erwärmen auf 40^o (69) - spricht für eine Stabilitätsminderung.

Die Wichtigkeit der nicht kollagenen Bestandteile für die Stabilität des Kollagens können durch weitere Befunde bestätigt werden. Gereinigte Proben eines Bakterienfermentes, der Kollagenase, welche keine proteolytische Aktivität besitzt, bewirken sehr leicht eine Auflösung des Kollagens (72). Es können jedoch nur kleinste Mengen des so gewonnenen Materials durch Dialyse entfernt werden und es gelingt auch nicht, freie Aminosäuren oder kleine Polypeptide chromatographisch nachzuweisen (73). Eine elektronenmikroskopische Betrachtung der Veränderungen, die das Kollagen auf Grund der Kollagenasewirkung aufweist, bestätigt, daß die primäre Wirkung des Fermentes gegen eine feine Kittsubstanz gerichtet ist, welche normalerweise die Hauptkomponenten des Kollagenmaterials zu den typischen, quergestreiften Fasern vereinigt (74, 75). Ob es sich bei dieser Kittsubstanz um ein Mucopolysaccharid handelt, muß durch weitere Analyse der unter Kollagenase auftretenden Spaltprodukte erst noch festgestellt werden. Natives, kollagenes Gewebe enthält jedenfalls Polysaccharide. Die durch Hydrolyse freigesetzte Glucose beträgt 0,4% des Trockengewichtes dieses Materials (68).

Die heutigen Anschauungen über die Natur des kollagenen Bindegewebes können folgendermaßen zusammengefaßt werden. Die quergestreiften Fibrillen, welche bei elektronenoptischer Betrachtung einen Durchmesser von etwa $1000 \text{ \AA}$ aufweisen, bestehen aus kleineren Einheiten, die durch eine Kittsubstanz zusammengehalten werden. Die Fibrillen wiederum, die mit einem polysaccharidhaltigen Material zu kollagenen Fasern zusammengeleimt sind, bilden die kollagenen Bündel. Die Bündel werden von einer Grundsubstanz von gallertiger Beschaffenheit gestützt, welche u.a. Hyaluronsäure, Chondroitinschwefelsäure und ein galaktosereiches Polysaccharid enthält. Das weiter innen liegende Mucopolysaccharid des Kittes enthält äußerst wenig Hyaluronsäure und Chondroitinsulfat, sondern besteht aus Galaktose, Mannose und Glucosamin. Die Fähigkeit des nativen Kollagens, die Wirkung der endogenen, trypsinartigen Fermente zu widerstehen, beruht hauptsächlich auf der engen Beziehung zwischen dem Protein der Baueinheiten und dem Mucopolysaccharid des Kittes. Mittel, welche die Innigkeit dieser Beziehungen zerstören, steigern die Empfindlichkeit gegenüber trypsinartigen Fermenten und reduzieren die Stabilität des Materials in vivo.

Auffallend ist die starke Resistenz des nativen Kollagens gegen alkalische Extraktion (76, 77). Sogar nach 40tägiger Extraktion mit $n/5$ KOH bei 0° verbleibt immer noch 50% des ursprünglichen Zuckergehaltes, ein Befund, der ohne Zweifel die bemerkenswerte in vivo Stabilität der Fascienimplantate mit nur 3tägiger Alkalibehandlung erklärt. (66). Bisher deutet alles darauf hin, daß die Fermentresistenz und die Stabilität in vivo Funktionen dieses festgebundenen Mucoproteids sind. Umgekehrt spricht die Verdaubarkeit durch Trypsin und die Absorption in vivo unter bestimmten Bedingungen für einen Abbau dieses Mucoproteids oder eine Störung in seiner Beziehung zum kollagenen Protein. Der Mechanismus, durch den dies in der Natur geschehen kann, ist noch unklar.

Diese stabilisierenden Beziehungen sind gegen Wärmeeinwirkung empfindlich, nur sind die erforderlichen Temperaturen, welche solche Veränderungen am nativen Kollagen bewirken, weit außerhalb des physiologischen Bereiches. Normalerweise liegt die Schrumpfungstemperatur des nativen Kollagens bei 67° . Mit Hyaluronidase behandelten Sehnen, weisen eine solche von 53° auf, während durch starke Kochsalzlösung

gefälltes Kollagen sogar eine Schrumpfungstemperatur von nur 43° besitzt (87). Unter Perjodatoxydation tritt die Wärmekontraktion schon bei 40° auf (88). In diesem Zusammenhang ist es interessant, daß die zwei Methoden zur Herstellung von absorbierbarem Catgut aus Bindegewebe von Schafsdarm sich entweder der Erhitzung auf 150° oder der länger dauernden Oxydation mit Jod bedienen (89). Vielleicht können weitere Studien über milde Oxydation von nativem Kollagen den Mechanismus des Kollagenabbaus in vivo weiter aufklären (66).

Eine gewisse Sonderstellung nimmt das elastische Gewebe ein, obwohl es mit dem Bindegewebe eng verwandt ist. Nach den Untersuchungen von SCHWARZ und DETTMER (97, 98), sind die Fibrillen des elastischen Gewebes ebenfalls quergestreift und morphologisch kaum von Bindegewebsfibrillen zu unterscheiden. Die Sonderstellung dieses Gewebes ist vielmehr durch die besondere Beschaffenheit der elastischen Kittsubstanz bedingt, welche auch die Grundlage für das abweichende histologisch-färberische Verhalten des elastischen Gewebes bildet. Als wichtigstes Beispiel für diesen Gewebstyp mag der Windkesselteil der Aorta angeführt werden. Die Interzellulärsubstanz besteht hier aus zwei verschiedenen Gewebsformationen, den elastischen Membranen und der dazwischen liegenden chromotropen Substanz. Die Kittsubstanz der chromotropen Substanz enthält größere Mengen Chondroitinschwefelsäure (35, 99, 100, 101) und färbt sich infolgedessen metachromatisch. Auf dem Boden der chromotropen Substanz sollen sich die eigentlichen elastischen Elemente erst bilden, wobei der Chondroitinschwefelsäure eine wichtige Rolle zugeschrieben wird (101). Die eigentliche elastische Kittsubstanz enthält nach neueren Untersuchungen (102 - 106) ebenfalls eine erhebliche Menge Mucopolysaccharide.

Für das elastische Gewebe konnte von BALO-BANGA (102 - 106) ein spezifisches Ferment, die Elastase dargestellt werden. Dieses Ferment wird im Pankreas gebildet und ist im Blut nachweisbar. Es konnte ferner festgestellt werden (102 - 106), daß bei Erkrankungen des elastischen Gewebes, wie z.B. der Arteriosklerose, die Fermentwerte verändert sind. Dies zeigt, wie bedeutsam die Bindegewebsfermente

für den normalen und pathologischen Stoffwechsel der Interzellularsubstanz sind. Über Steuerungsfaktoren im Sinne einer Hemmung oder Aktivierung der Elastase ist bisher nichts bekannt.

Trotz seiner gewissen Sonderstellung kann sich das elastische Gewebe zum reifen Kollagen weiterdifferenzieren. Diese Differenzierung tritt in gewissem Umfang während der Alterung auf. Durch diesen Prozeß und eine Vermehrung der chromotropen Substanz in der alten Aorta kommt es auch zu den charakteristischen Veränderungen dieses Gewebes, welche in einer Dickenzunahme, Weiterstellung des Lumens und einer Elongation bestehen (107).

Damit erhebt sich die Frage nach der Alterung der Interzellularsubstanzen. Hier liegen bisher nur wenige elektronenmikroskopische Untersuchungen vor (107 - 109), die darauf hindeuten, daß die Alterung der Interzellularsubstanzen mit einer unphysiologischen Weiterdifferenzierung verbunden ist. So tritt bei der Altersaorta eine unphysiologische Kollagenisierung der elastischen Fibrillen in der Media auf, was als Weiterdifferenzierung des elastischen Gewebes aufgefaßt werden muß. Schon ASCHOFF (110) konnte eine Quellung der Kittsubstanz der elastischen Fasern in arteriosklerotischen Aorten nachweisen, wofür von FREY (111) eine Verschiebung der Eiweißstruktur nach der Seite der grobdispersen Stoffe verantwortlich gemacht wurde. Nach SCHWARZ (107) geht im Alter die Kittsubstanz der elastischen Fasern in einen höheren Polymerisationsgrad über, was eine höhere Dichte des alten elastischen Gewebes und Starrwerden der Fasern bewirkt. Im selben Sinne sprechen auch die Beobachtungen von RINEHART (112), daß als erste Veränderung in arteriosklerotischen Aorten die Bildung von metachromatischen Substanzen in der Grundsubstanz vermehrt ist. Die Intensität der Metachromasie ist jedoch proportional dem Polymerisationsgrad der Mucopolysaccharidbestandteile (29, 113, 114).

III. SPEZIELLER TEIL : DIE MUCOPOLYSACCHARIDE

1. Einleitung

Die bisher angegebenen Klassifizierungen der Glykoproteide tragen sehr wenig zur Klärung des Gebietes bei. Hinsichtlich der üblichen Einteilungen sei auf die Zusammenstellungen von STACEY (115) und KENT-WHITEHOUSE (116) verwiesen.

Ohne hier zu den verschiedenen Vorschlägen der Einteilung der Glykoproteide Stellung zu nehmen, kann jedoch festgestellt werden, daß die prostethische Gruppe der sauren Glykoproteide, die Chondroitinschwefelsäure, die Keratoschwefelsäure, die Hyaluronsäure, das Heparin und teilweise auch die Sialinsäure gemeinsame Eigenschaften haben, auf jeden Fall andere, als die aus dem acethylierten Glucosamin und den Neutralzuckern Mannose, Glucose und Fucose aufgebauten prostethischen Gruppen der neutralen Glykoproteide. Es ist fraglich, ob man berechtigt ist, die obengenannten sauren Polysaccharide überhaupt zu den Glykoproteiden zu rechnen. Die Bezeichnung Mucopolysaccharide von STACEY (117) oder die Bezeichnung Aminopolysaccharide von KENT-WHITEHOUSE (116) dürfte besser gewählt sein. Die elektrische Ladung der sauren Polysaccharide, welche bei den sulfathaltigen Verbindungen besonders stark ist, ermöglicht eine weitgehende Komplexverbindung mit den Proteinen. In der Gruppe der neutralen Glykoproteide liegt eine viel stärkere Bindung der prostethischen Gruppen an den Proteinanteil vor (JORPES, 118). Dies deckt sich auch mit den Ansichten von MASAMUNE (119): wo der Polysaccharidanteil aus Uronsäure und Hexosamin aufgebaut ist, überwiegt die elektrostatische Attraktion zu dem Proteinanteil. Dies gilt vor allem für die Fälle, in denen das Polysaccharid mit Schwefelsäure verestert ist. In den neutralen Glykoproteiden, von MASAMUNE (119) als Glucidamine bezeichnet, ist die prostethische Gruppe stärker an die Aminosäuren gebunden.

Die Mucopolysaccharide sind also als tierische, saure, hochmolekulare Glykoproteide zu definieren, deren prostethische Gruppen Hexosamin (d-Glucosamin oder d-Galactosamin) und eine Uronsäure enthalten. In einigen von ihnen wird der saure Charakter noch durch Veresterung mit Schwefelsäure verstärkt.

2. Der Gehalt des Bindegewebes und der anderen Stützsubstanzen an Polysacchariden und ihre Bedeutung

Es ist für das Stützgewebe direkt charakteristisch, daß saure Polysaccharide vom Typ der Chondroitinschwefelsäure vorhanden sind. Letztere beträgt 20 - 30% der Trockensubstanz des hyalinen Knorpels und kommt in der Matrix des Knochengewebes, im Nucleus pulposus, in den Sehnen, im Unterhautbindegewebe, in den Wänden der Blutgefäße und in der Cornea vor. Parenchymatöse Gewebe weisen dagegen nur einen geringen Polysaccharidgehalt auf (118).

GRASSMANN (120) zeigte, daß das Hautkollagen etwa 0,6% Polysaccharide enthält. MEYER - CHAFFEE (121) konnten Chondroitinschwefelsäure B aus der Schweinehaut isolieren. PEARCA - WATSON (122, 123) fanden in 100 g frischem Hautgewebe etwa 25 mg Chondroitinschwefelsäure und etwa ebensoviel Hyaluronsäure, im myxomatösen Gewebe dagegen viel mehr. CONSDEN und Ma. (68) sowie BOWES - KENTEN (124) fanden im Unterhautbindegewebe Mannose, Galactose und Hexosamin. Nach BANGA-BALÓ (125) enthält die Trockensubstanz von hitzekoaguliertem Sehnenkollagen 3 - 6% Kohlehydrate. Die Achillessehne und das Ligamentum nuchae enthalten 1,1 - 1,3% Kohlehydrate, fünfmal mehr, als das aus ihnen dargestellte Kollagen bzw. Elastin.

Die bisher genauesten Analysen verschiedener Bindegewebsarten vom Rind sind vom GLEGG und Ma. (126) durchgeführt worden. Das Gewebe wurde 4 Tage lang in der Kälte mit NaOH extrahiert und die neutralisierten Extrakte zur Ausfällung der sauren Polysaccharide mit 2 Vol. Alkohol versetzt (Fraktion I). Durch Erhöhung der Alkoholkonzentration auf 84% wurde eine Fraktion II erhalten. Die Fraktionen wurden enteweißt (siehe Tabelle 1).

Bei allen untersuchten Geweben, mit Ausnahme des Knorpels, war die Ausbeute aus Fraktion II größer als aus Fraktion I. Fraktion I enthielt Glucuronsäure, Fraktion II Galactose, Mannose und l-Fucose, aber keine Glucuronsäure. Fraktion I aus der enteweißten Knochen-

matrix enthielt 28,4% Hexosamin, 21% Uronsäure und 5,1% Schwefel. Fraktion II Galactose, Mannose und 1-Fucose, jedoch keine Schwefelsäure und Uronsäure (127).

Tabelle 1:

Polysaccharidgehalt verschiedener Bindegewebsarten vom Rind nach GLEGG und Ma. (126) in Prozent des Trockengewichtes.

	Fraktion I	Fraktion II
Elastisches Gewebe (Lig.nuchae)	0,1	0,3
Achillessehne	0,2	> 2,0
Lunge	0,7	5,6
Haut	0,3	6,8
Knorpel	14,8	3,5
Knochen (decalcifizierte Matrix)	0,2	2,4

PARTRIDGE (71) und BOWES - KENTEN (124) glauben, daß die Chondroitinschwefelsäure die Kittsubstanz des Knorpels ist. WOODIN (128) schlug eine ähnliche Struktur für die Cornea vor, JACKSON (87) für die Sehnen, wo der Polysaccharidgehalt jedoch 1% nicht übersteigt. Offenbar werden größere Komplexe von Chondroitinschwefelsäuremolekülen durch Proteinmoleküle zusammengehalten. Wahrscheinlich wirken diese Komplexe stabilisierend auf die mesenchymale Grundsubstanz. Jedenfalls trägt die Chondroitinschwefelsäure neben der Hyalorinsäure dazu bei, das humorale Gleichgewicht in den Geweben aufrechtzuerhalten. Beide werden durch Hyaluronidase depolymerisiert, wonach eine schnelle Diffusion von Wasser und Kolloiden in das umgebende Gewebe eintritt (28).

Die Frage eines Einflusses der Gewebsmucopolysaccharide auf die Bildung der strukturellen Elemente des Bindegewebes ist noch nicht eindeutig entschieden, aber wahrscheinlich. GROSS und Ma. (34, 129) konnten zeigen, daß eine Menge organischer Substanzen animalen und pflanzlichen Ursprungs eine Fibrillenbildung hervorrufen können. Sehr aktiv in dieser Hinsicht sind Hyaluronsäure, Chondroitinschwefelsäure (87) und ganz besonders das Heparin (48). Schon ein

geringer Zusatz saurer Mucopolysaccharide genügt, um eine geordnete Fibrillenstruktur der homogen verteilten Partikelchen in einer Kollagenlösung hervorzurufen. Für Heparin genügt eine Konzentration von 1 : 800 000 (48). Die Wiederherstellung der Fibrillenstruktur wurde von JACKSON (130) ausführlich behandelt.

3. Die Bindung zwischen Polysaccharid und Eiweiß

Die Komplexbildung zwischen Chondroitinschwefelsäure bzw. Hyaluronsäure und Eiweiß wurde von K. MEYER (131) sowie OGSTON - STANIER (132) eingehend diskutiert. Eine convalente Bindung zwischen Eiweiß und Chondroitinschwefelsäure ist jedenfalls ausgeschlossen. CORTER - NANNINGA (133) konnten eine salzartige Komplexverbindung zwischen Heparin und Eiweiß wahrscheinlich machen.

Auch bei dem in Phenol unlöslichen Mucoïd der Cornea wurde von WOODIN (128, 134) eine salzartige Verbindung zwischen Estersulfat und Arginin angenommen. Der Eiweißanteil des Mucoïds rührt nicht vom Kollagen her. Der Polysaccharidanteil, der 60% der Trockensubstanz des Mucoïds ausmacht, enthält Estersulfat, Galactose, sowie Hexosamin. Das Mucoïd hat eine Molekülgröße von 200 000. Durch Behandlung mit Alkali wird der Komplex dissoziiert und die Molekülgröße erniedrigt sich auf 110 000. In einer 5 mol. Harnstofflösung verringert sich das Molekulargewicht auf 80 000.

Auch im Chondromucoïd ist die Chondroitinschwefelsäure in irgend einer Form gebunden. Ein Drittel der Chondroitinschwefelsäure ist als ein in Wasser leicht lösliches Mucoïd extrahierbar, das zu 60% aus Chondroitinschwefelsäure besteht (135). Die Hauptmenge des im Knorpel zurückgebliebenen Restes kann mit 30% Kaliumchloridlösung, welche 1% K_2CO_3 enthält, extrahiert werden. Reine Chondroitinschwefelsäure zu erhalten ist sehr schwierig. Um ein kristallines Calciumsalz zu erhalten, mußte das Material 16 mal mit Kaolin behandelt werden, um das verunreinigte Mucoïd völlig zu entfernen (136).

Bei den neutralen Glykoproteiden rechnet man mit einer glykosidischen Bindung zwischen Zuckern und Aminosäuren (119). Bei Reinigung der Proteine durch Umkristallisieren sieht man gewöhnlich, wie die letzten Spuren Polysaccharid entfernt werden können. Die neutralen Polysaccharide sind jedoch in einigen Proteinen sehr fest gebunden. Auch nach 8 - 10 maligem Umkristallisieren enthält z.B. das Ovalbumin immer noch 1,8% Kohlehydrate (137). Auch die hochgereinigte β -Glykosidase, das Emulsin, enthält noch 5 - 6% Kohlehydrate (138). Die Plasmaproteine enthalten mit Ausnahme des Serumalbumins (139), welches man kristallin kohlehydratfrei erhalten kann, alle einen Kohlehydratkomplex, der in den γ -Globulinen mehr als 10% des Gesamtgewichtes ausmacht.

Es erhebt sich die Frage, ob die Plasmaproteine und vielleicht auch die Proteine des Bindegewebes u.U. nur mit kohlehydratreichen Mucoproteinen verunreinigt sind (118). Solche kohlehydratreiche Mucoproteine sind aus Plasma isoliert und sogar kristallin erhalten worden. (Vergleiche dazu auch die ausgezeichnete Übersicht von SCHULTZE, 139).

Die serologisch spezifischen Blutgruppensubstanzen, welche nicht nur in den Erythrozyten, sondern auch im Mucin des Magenschleims vorkommen, sind ebenfalls hochmolekulare Polysaccharide, welche außer l-Fucose, d-Glucosamin, d-Galactosamin, d-Galactose die 12 Aminosäuren Alanin, Arginin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Glykokoll, Leucin, Isoleucin, Lysin, Prolin, Serin, Threonin und Valin enthalten (140). Letztere sind ein integrierender Bestandteil der Blutgruppensubstanzen. Wenn sie abgespalten werden, geht die Spezifität verloren (141 - 143). Die Annahme liegt nahe, daß die Aminosäuren Ester-, N-Aether- oder O-Aetherbrücken mit den vorwiegend kettenförmig angeordneten Polysaccharadbestandteilen bilden (144, 145), die sich z.T. durch eine relativ große Beständigkeit gegenüber hydrolytischen Einflüssen auszeichnen (119). Nach MORGAN (144) und KABAT (145) enthalten die Blutgruppensubstanzen wie die Mucine weder Glucose noch Uronsäure, im Gegensatz zu ihnen keine Mannose und Sialinsäure, dagegen viel mehr l-Fucose. Siehe auch die Analysergebnisse von MORGAN (140) in Tabelle 2.

Tabelle 2:

Analysenwerte von MORGAN (140) für Präparationen menschlicher Blutgruppensubstanzen (Angaben in Prozent).

Substanz	Optische Drehung	Stick- stoff	Acethyl- gruppen	Hexos- amin	l-Fucose	Reduz. Zucker
A-Subst.	+15 ⁰	5,7	9,0	37	18	56
H-Subst.	-30 ⁰	5,3	8,6	31	13	54
Le ^a -Subst.	-40 ⁰	5,0	9,9	32	12	57
B-Subst.	0 ⁰	5,7	7,0	20	18	50

4. Der Stoffwechsel der Mucopolysaccharide

Mit radioaktiven Isotopen ist in den letzten Jahren die Umsatzgeschwindigkeit der Chondroitinschwefelsäure in Hyaluronsäure bestimmt worden. Siehe dazu auch die Zusammenstellung von BOSTRÖM - JORPES (146), DORFMAN (95), DORFMAN - MATHEWS (25), sowie KENT (247).

Die Halbwertszeit der Sulfatgruppe der Chondroitinschwefelsäure beträgt im Knorpel der Ratte 16 Tage, im Unterhautgewebe 8 - 9 Tage (146). Mit etwa gleicher Geschwindigkeit erfolgt der Umsatz der Acethylgruppe und es ist sehr wahrscheinlich, daß dasselbe auch für das ganze Molekül gilt (147, 148). Der Sulfatumsatz wird durch Glutamin beschleunigt (149). Schon früher wurde festgestellt, daß die Mikroorganismen Glutamin als Stickstoffquelle bei der Synthese von Glucosamin verwenden (154, 155). Das von ROBBINS - LIPMANN (150) beschriebene Adenosamin - 3' - phosphat - 5' - phosphorsulfat wirkt wohl bei verschiedenen enzymatischen Reaktionen als "aktives Sulfat" und spielt wahrscheinlich auch in der Biosynthese der schwefelhaltigen Mucopolysaccharide eine wichtige Rolle.

DORFMAN (95) hat die Umsatzgeschwindigkeit der Hyaluronsäure im Unterhautgewebe mit C¹⁴ bestimmt und gefunden, daß dieselbe etwa 3 mal größer ist als die der Chondroitinschwefelsäure desselben Gewebes. Über den Mechanismus des Aufbaus der Hyaluronsäure ist noch nichts

bekannt, doch konnten aus Hefezellen und Hühneroviduct Uridindiphosphat-N-acetylglucosamin isoliert werden (151) und aus der Leber Uridindiphosphat-glucuronsäure (152). Diese nucleotidgebundenen Zucker stellen nach GLASER - BROWN (153) möglicherweise die aktive Form von N-Acetylglucosamin und Glucuronsäure dar und könnten für die Biosynthese der Mucopolysaccharide von großer Bedeutung sein. Es gilt als sicher, daß die Hyaluronsäure im Bindegewebe von den Fibroblasten gebildet wird (42, 43). Die von ASBOE - HANSEN (45) vertretene Ansicht, daß die Hyaluronsäure auch in den Mastzellen - möglicherweise über eine Heparinvorstufe - produziert wird, wird von JORPES (46) bestritten.

Auch über die Biosynthese der Chondroitinschwefelsäure ist noch wenig bekannt. Vielleicht spielt hier Uridindiphosphat-N-acetylglactosamin und Uridindiphosphat-N-acetylglactosaminsulfat eine Rolle, welche aus tierischem Gewebe isoliert werden konnten (149 150). Ein aus Rinderaugenhornhaut dargestelltes Chondroitin, welches aus N-acetylglactosamin und Glucuronsäure besteht, ist wahrscheinlich eine sulfatfreie Vorstufe der Chondroitinschwefelsäure (156).

In autoradiographischen Studien konnten JORPES - BOSTRÖM (146) zeigen, daß die stärkste Sulfatfixierung im Knorpelgewebe auftritt, während Arterienwände, Herzklappen, Haut und gastrointestinales Epithel weniger Sulfat aufnimmt. In der Subcutis zeigten nur die Mastzellen einen starken Sulfateinbau innerhalb von 5 Tagen, was auf die Bildung von Heparin, bzw. dessen Vorstufen zurückgeführt werden muß. Die Sulfatfixierung nimmt unter Thyroxinmedikation zu (157), nach Cortison dagegen ab (158, 159).

Da die Elemente des eigentlichen Stützgewebes, die kollagenen und elastischen Fasern, einen sehr langsamen Umsatz zeigen (61, 62), ist es klar, daß die Chondroitinschwefelsäure, die Hyaluronsäure und die anderen Mucopolysaccharide ihr eigenes Leben im Bindegewebe führen und jedenfalls nicht nur als tote Kittsubstanzen zu betrachten sind.

5. Der histochemische Nachweis der Mucopolysaccharide

Die Mucopolysaccharide können durch zwei histochemische Reaktionen nachgewiesen werden. Einmal durch die sogenannte Metachromasie, welche auf der Eigenschaft gewisser basischer Farbstoffe, wie z.B. Toluidinblau beruht, mit sauren Polymeren einen Farbumschlag zu geben. Es handelt sich dabei jedoch nicht um eine für die Mucopolysaccharide spezifische Reaktion, da z.B. auch die Nucleinsäuren positiv reagieren. Von GERSH (29), LENNOX und Ma. (113) sowie LOEWI (114) wurde die These vertreten, daß die Intensität der Metachromasie ein Maßstab für den Polymerisationsgrad der Mucopolysaccharide der Gewebe darstelle. WALTON - RICKETTS (160) sind dagegen der Auffassung, die Metachromasie stehe in Beziehung zu Anzahl und Dissoziationsgrad der in den Mucopolysacchariden gebundenen Säureradikale, wobei vor allem die Dichte der sauren Gruppen (Sulfat, Phosphat, Carboxyl) der mit dem Farbstoff reagierenden Polyelektrolyte ausschlaggebend sei. Sowohl Heparin wie Chondroitinschwefelsäure und Mucoitinschwefelsäure zeigen Metachromasie, die für das Bindegewebe besonders wichtige Hyaluronsäure dagegen nicht (161, 162). Dies spricht sehr für die Ansichten von WALTON - RICKETTS (160), nachdem Hyaluronsäure einen höheren Polymerisationsgrad als Heparin und Chondroitinschwefelsäure aufweist, dagegen aber einen weniger sauren Charakter besitzt.

Die zweite Möglichkeit Mucopolysaccharide im Gewegsschnitt sichtbar zu machen, ist der Nachweis mit der Perjodat-SCHIFF-Reaktion (163, 164). Perjodat reagiert unter bestimmten Bedingungen spezifisch mit Δ -Glykolen, welches es zu Aldehyden oxydiert. Diese können dann mit dem SCHIFFschen Leukofuchsin sichtbar gemacht werden. Hyaluronsäure reagiert jedoch nicht mit Perjodat und Chondroitinschwefelsäure nur sehr langsam, sodaß wahrscheinlich noch andere Substanzen wenigstens teilweise für die Färbung verantwortlich sind. Damit sind beide Reaktionen nicht spezifisch für die Mucopolysaccharide, sondern nur hinweisender Natur.

6. Chondroitinschwefelsäure

Die Chondroitinschwefelsäure wurde erstmals von FISCHER - BOEDEKER (165) 1861 sowie von KRUKENBERG (166) 1884 und MÖRNER (167) 1889 aus Knorpelgewebe dargestellt und von Letzterem als Esterschwefelsäure erkannt. Außer in Knorpel konnte sie in Sehnen, Aorten, Skleren (168), Haut (121), Nabelstrang (169), sowie im Knochengewebe (170) und allen Formen des Bindegewebes nachgewiesen werden.

Durch Arbeiten von SCHMIEDEBERG (171) sowie LEVENNE und Ma. (172, 175) wurde die Konstitution der Chondroitinschwefelsäure weitgehend aufgeklärt. Sie ist aus unverzweigten Ketten von Disaccharideinheiten zusammengesetzt, welche d-Galactosamin und d-Glucuronsäure enthalten. Das Glucosamin ist am Stickstoff acetyliert. Auf jede Disaccharideinheit entfallen saure Gruppen, eine Sulfatgruppe und eine freie Carboxylgruppe der Glucuronsäure. Es handelt sich demnach um eine polybasische Säure.

Durch vorsichtige Hydrolyse mit verdünnten Mineralsäuren kann die Sulfatgruppe der Chondroitinschwefelsäure abgespalten werden, ohne daß die Substanz erheblich abgebaut wird. Man erhält auf diese Weise das sogenannte Chondroitin. Durch Behandlung mit stärkeren Säuren wird Chondroitin depolymerisiert und desacetyliert. Hierbei erhält man Chondrosin, welches das Reduktionsvermögen eines reduzierenden Disaccharides besitzt und aus Glucuronsäure und Galactosamin (Chondrosamin) zusammengesetzt ist. Chondrosin kann in ein kristallines Anhydrid das Chondridin übergeführt werden (173, 174). Später konnte von LEVENNE (175), WOLFROM und Ma. (176), MASAMUNE (177) sowie MEYER - DAVIDSON (178) der kristalline Methylester des Chondrosinhydrochlorids dargestellt werden, der zur Strukturaufklärung der Chondroitinschwefelsäure viel beigetragen hat. STACEY und Ma. (179) konnten zeigen, daß sowohl die Glucuronsäure als auch das Galactosamin im Polysaccharid in der Pyranoseform vorliegen. Die galactosamidische Bindung soll nach MEYER (178) zu C₄ der Glucuronsäure gehen. Es liegt damit eine β -glucosidische Bindung der Glucuronsäure vor, welche man auf Grund der Linksdrehung der Chondroitinschwefelsäure auch erwarten konnte. Der Ansatzpunkt der Sulfatgruppe im Galactosamin dürfte in 1-Stellung vorliegen.

Die von K.H.MEYER (180) aus Knorpel mit verdünntem Alkali extrahierte Chondroitinschwefelsäure gibt schwach visköse Lösungen mit einem Molekulargewicht von ca. 30 000. In schonender Weise ohne Alkali erhaltene Chondroitinschwefelsäure gibt dagegen hochvisköse Lösungen, die Strömungsdoppelbrechung zeigen (181). Es fanden sich Moleküle mit einer Kettenlänge von ca. 4700 Å. Die native Chondroitinschwefelsäure ist demnach ein hochpolymeres Kohlehydrat von der Form eines Fadenmoleküls, dessen Molekulargewicht in der Größenordnung von 200 000 - 300 000 liegt.

Die Bestimmung des Molekulargewichtes und auch anderer physikalischer Charakteristica bei hochpolymeren Substanzen ist immer problematisch. So findet sich einmal gerade bei den Mucopolysacchariden ein Unterschied zwischen den Ergebnissen der physikalischen (Viskosität, Strömungsdoppelbrechung) und der chemischen (reduktometrischen) Bestimmungsmethode des Molekulargewichtes (182). Außerdem stören die elektrischen Ladungen der sauren Mucopolysaccharide, so daß man das Molekulargewicht dieser Substanzen in der Ultrazentrifuge und durch Diffusion nicht bestimmen kann (183). Und letzten Endes muß man immer bedenken, daß durch auch nur minimale Proteinreste in den Präparationen große Molekularkomplexe vorgetäuscht werden, die dann hinsichtlich Viskosität und Molekulargewicht viel höhere Werte ergeben, als die gleichen Präparationen, welche wirklich völlig frei von Protein sind (184). Angaben über das Molekulargewicht der Mucopolysaccharide sind daher immer mit einer gewissen Skepsis zu betrachten.

Die Chondroitinschwefelsäure ist eine amorphe, farblose Substanz, die in organischen Lösungsmitteln unlöslich, in Wasser dagegen leicht löslich ist. Die wässrige Lösung ist linksdrehend. Die optische Drehung des Ca-Salzes beträgt -16° bis -18° , die der neutralen Lösung -27° bis -32° (180, 185). Fast sämtliche Salze sind wasserlöslich. Die neutrale Lösung wird von basischem Bleiacetat und von Lanthansalzen gefällt. Alkohol fällt vollkommen nur in Gegenwart von Neutralsalzen. Schon bei schwach alkalischer Reaktion (0,01 n NaOH) wird native Chondroitinschwefelsäure schnell bis zu einem gewissen Grad depolymerisiert (181), was sich in einer starken Senkung der Viskosität äu-

Bert. Außerdem kann eine Depolymerisation auch leicht durch Oxydationsmittel herbeigeführt werden (186).

MEYER - RAPPORT (187) gelang 1951 auf Grund fermentchemischer Untersuchungsmethoden der Nachweis, daß in der Natur verschiedene Chondroitinschwefelsäuren vorkommen, die sich hinsichtlich ihrer chemischen und physikalischen Eigenschaften unterscheiden (188). Die Chondroitinschwefelsäure A und C enthalten beide Glucuronsäure und sind möglicherweise polymere Homologe. Die Chondroitinschwefelsäure B wurde kürzlich von MEYER und Ma. (189) als ein Gemisch zweier isomerer Polysaccharide erkannt, deren größere Komponente 1-Iduronsäure, die kleinere Komponente hingegen d-Glucuronsäure enthält. Die Chondroitinschwefelsäure A aus Knorpel hat eine optische Drehung von -30° , die Chondroitinschwefelsäure B aus Haut -50° und die Chondroitinschwefelsäure C aus Sehnengewebe -20° (187).

7. Hyaluronsäure

MEYER - PALMER (190) stellten 1934 erstmals aus dem Glaskörper von Rinderaugen ein saures Mucopolysaccharid dar, welches von ihnen als Hyaluronsäure bezeichnet wurde. Daneben konnte diese Hyaluronsäure aus Synovialflüssigkeit, Nabelschnur, Haut und gewisse Tumoren isoliert werden. Auch haemolytische Streptokokken der Gruppe A und C bilden hyaluronsäurehaltige Kapseln und sezernieren das Polysaccharid in die Kulturlösung (191).

Hyaluronsäure ist ein hochpolymeres, unverzweigtes Polysaccharid, dessen Periode ein aus N-acetylglucosamin (190) und Glucuronsäure (192) bestehendes Polysaccharid ist. Diese Disaccharideinheit, auch Hyalobiuronsäure genannt, konnte sowohl durch saure Hydrolyse als auch durch enzymatische Spaltung des Hyaluronsäure durch Hyaluronidase erhalten werden (193). Ferner konnte gezeigt werden, daß die glycosidische Bindung des Polysaccharids entweder beide vom Typus 1 - 3 sind (194, 195), oder daß die glucosamidische Bindung vom Typus 1 - 3, die glucuronidische hingegen vom Typus 1 - 4 ist (196). Die Linksdrehung weist auf eine β -glycosidische Bindung hin.

Neutrale und salzfreie Lösungen sind hochviskös. Solche Lösungen zeigen starke Strömungsdoppelbrechung (181). Die Hyaluronsäure scheint in den Geweben noch höher polymerisiert als die Chondroitinschwefelsäure vorzuliegen. Die Kettenmoleküle einer aus Nabelschnur dargestellten Hyaluronsäure weisen eine Kettenlänge von ca. 10 000 Å auf, aus Glaskörper gewonnene Hyaluronsäure eine solche von ca. 5000 Å. Das Molekulargewicht der nativen Hyaluronsäure liegt zwischen 300 000 - 500 000, in gewissen Fällen vielleicht noch höher (physikalische Methode durch Messung der Viskosität und Strömungsdoppelbrechung). Reduktometrische Bestimmungen des gleichen Produktes ergaben hingegen ein chemisches Molekulargewicht von 20 000 - 25 000 (182). (Bezüglich Molekulargewicht siehe auch Seite 33). Wie die Chondroitinschwefelsäure, so wird auch die Hyaluronsäure durch Alkali und Oxydationsmittel leicht bis zu einem gewissen Grad depolymerisiert. Auch diese Substanz besitzt damit eine alkalische Überstruktur.

Sowohl die freie Säure, als auch ihre Salze sind leicht löslich in Wasser. In organischen Lösungsmitteln ist die Hyaluronsäure dagegen nicht löslich. Die optische Drehung schwankt zwischen -60° und -80° .

Die Darstellung der Hyaluronsäure gelingt am leichtesten aus Glaskörper und Nabelstrang. Die Hauptschwierigkeit bei der Reindarstellung liegt wie bei der Chondroitinschwefelsäure darin, Eiweißreste vollkommen zu beseitigen (181, 190, 197, 199). Oft sind auch noch kleinere Mengen Chondroitinschwefelsäure im Präparat vorhanden, welche mittels elektrophoretischer Methoden abgetrennt werden kann (198). (Siehe auch die Zusammenstellung über die Chemie der Mucopolysaccharide von JEANLOZ, 206).

8. Mucoitinschwefelsäure (Hyaluronschwefelsäure ?)

Die Mucoitinschwefelsäure ist ein schwefelhaltiges, saures Mucopolysaccharid, welches von LEVENNE und Ma. (200) in der Magenmucosa, der Hornhaut, dem Glaskörper und im Blutserum nachgewiesen wurde. Jedoch nur für die Magenmucosa und die Hornhaut konnte das Vorkommen der Mucoitinschwefelsäure von späteren Untersuchern bestätigt werden (201 - 204).

Die Periode der Mucoitinschwefelsäure ist ein Disaccharid, welches N-acethyl-d-glucosamin (200), d-Glucuronsäure (203) und Schwefelsäure enthält. Durch Abspaltung der Sulfatgruppe bekommt man eine schwefelfreie Substanz, das Mucoitin (200).

Die von MEYER - CHAFFEE (204) aus der Cornea isolierte Mucoitinschwefelsäure gibt eine visköse Lösung mit einer Linksdrehung von -51° . Sie wird von Hyaluronidase gespalten und wird deswegen und wegen ihrer starken Linksdrehung auch als Hyaluronschwefelsäure bezeichnet (204). Die aus kommerzieller Magenmucosa hergestellte Mucoitinschwefelsäure war dagegen gegenüber Hyaluronidase völlig resistent und weist eine schwächere Linksdrehung von nur -36° in neutraler Lösung auf (203). Außerdem scheint nach der Zusammenstellung von STACEY (115) die Hyaluronschwefelsäure im Gegensatz zur Mucoitinschwefelsäure ein l-Hexosamin zu enthalten.

9. Heparin

1916 fand McLEAN (207) in der Hundeleber einen gerinnungshemmenden Stoff, welcher von HOWELL - HOLT (208) nach seinem Ursprungsort als Heparin bezeichnet wurde. Es handelte sich dabei um ein stickstoffhaltiges Kohlehydrat (209), und wurde von FISCHER (210) erstmals als Polysaccharid erkannt.

Der chemische Aufbau des Heparins wurde von JORPES (211) 1935 weitgehend aufgeklärt. Es ist ein Mucopolysaccharid-Polyschwefelsäureester, welcher einen durchschnittlichen Schwefelgehalt von 11,5 - 13,5% aufweist. Das Hexosamin wurde als d-Glucosamin (212), der Hexuronsäureanteil als d-Glucuronsäure (213) identifiziert. Die Aminogruppe des Glucosamins ist im Gegensatz zu den anderen Mucopolysacchariden nicht acethyliert, sondern sulfuriert (214, 215).

Nach neueren Untersuchungen von JAKUES und Ma. (216) sowie JORPES und Ma. (217) kommt in der Natur nicht nur ein Heparin vor. Heparin ist vielmehr keine eng umrissene chemische Substanz, sondern meist ein Gemisch von Heparin-mono-, -di- und -tri-schwefelsäureestern.

Hinsichtlich der biologischen Wirksamkeit bestehen große Unterschiede zwischen den Heparinen der verschiedenen Tierarten. Aber auch im Körper eines einzelnen Individuums schwanken die Heparine in Bezug auf ihre Wirksamkeit in Abhängigkeit von dem Gewebe, aus welchem sie isoliert werden (218), wie aus Tabelle 3 hervorgeht. Auch der Polymerisationsgrad und der Schwefelgehalt der Heparine ist öfters größeren Schwankungen ausgesetzt, je nachdem höher oder nieder polymerisierte und veresterte Komponenten in den Gemischen enthalten sind (219).

Tabelle 3 :

Gerinnungsphysiologische Antithrombinaktivität von Heparinen verschiedener Spezies bei Isolierung aus Lunge und Leber nach MARBET - WINTERSTEIN (218)

Spezies	Δ -Heparin aus Lunge	Δ -Heparin aus Leber
	opt. Aktiv. = +50 ⁰ IE/mg	opt. Aktiv. = +50 ⁰ IE/mg
Rind	130	110 - 160
Schaf	86	132
Hund	240	280
Pferd	80	119
Katze	90	117
Schwein	56	---

Über die Chemie, Wirkungsweise und physiologische Bedeutung des Heparins siehe auch die neueren Zusammenstellungen von WALTON (220) und YAKYMECHKO (221).

Δ -Heparin:

Als Δ -Heparin wurde von MARBET - WINTERSTEIN (222) reiner Heparin-trischwefelsäureester bezeichnet, welcher hinsichtlich seiner Aktivität dem internationalen Heparinstand entspricht. Die gerinnungsphysiologische Aktivität des Δ -Heparins aus Rindslungen beträgt 130 IE/mg. Im Δ -Heparin liegt eine Δ -glykosidische Bindung vor, im Gegensatz zu den anderen Mucopolysacchariden. Nach WOLFROM und Ma. (223) soll

im α -Heparin Glucuronsäure, Glucosamin und Schwefelsäure in einem Molaren Verhältnis von 2:2:5 vorliegen. Das Molekül besteht aus unverzweigten Ketten und soll ein Molekulargewicht von ca. 20 000 besitzen (223). JENSEN und Ma. (224) geben indessen ein solches von 12 000 - 16 000 (siehe jedoch hierzu S. 33). α -Heparin weist eine Rechtsdrehung von $+50^{\circ}$ auf.

β -Heparin:

1951 konnten MARBET - WINTERSTEIN (222) aus Rinderlungen ein Polysaccharid isolieren, welches eine gerinnungsphysiologische Aktivität von 36 IE/mg besitzt, sich jedoch von α -Heparin in seinen chemischen Eigenschaften stark unterscheidet. So enthält es d-Galactosamin statt Glucosamin, es fand sich ferner eine β -glykosidische Bindung, - daher auch der Name β -Heparin. β -Heparin weist eine Linksdrehung von -60° auf. Außerdem ist die Aminogruppe nicht sulfuriert, wie bei α -Heparin, sondern acetyliert. Als Bausteine enthält β -Heparin Uronsäure, Galactosamin, Schwefelsäure und Essigsäure in aequimolaren Mengen. Es zeigt also chemisch den gleichen Aufbau wie Chondroitinschwefelsäure. Beide Verbindungen sind ebenso leicht durch Säuren hydrolysierbar. Das Molekulargewicht des β -Heparins ist jedoch nur rundhalb so groß wie das der Chondroitinschwefelsäure und letztere weist im Gegensatz zu β -Heparin keine gerinnungsphysiologische Aktivität auf. Worauf dieser Unterschied zurückzuführen ist, ist noch nicht bekannt. Vielleicht spielt hier die Verkettung und der Feinbau der Moleküle eine Rolle oder auch der Ansatzpunkt des Sulfats im Molekül, welcher auch noch nicht bekannt ist. - Die Untersuchungsergebnisse von MARBET - WINTERSTEIN (222) konnten in allen Punkten von YAMASHINA (225) bestätigt werden.

Aus Schafslungen konnten MARBET - WINTERSTEIN (218) ebenfalls einen β -Heparin ähnlichen Stoff isolieren, der auch N-acetylglactosamin enthält, einen Monoschwefelsäureester darstellt, jedoch im Gegensatz zu β -Heparin aus Rinderlungen eine Linksdrehung von -67° und eine gerinnungsphysiologische Aktivität von 70 IE/mg aufweist.

Heparinmonoschwefelsäure:

Diese von JORPES - GARDELL (217) beschriebene Substanz ähnelt dem Δ -Heparin hinsichtlich seiner chemischen Zusammensetzung, seiner optischen Drehung (+74°) und seiner Resistenz bei der sauren Hydrolyse und unterscheidet sich dadurch deutlich von der Hyaluronschwefelsäure. Der Schwefelgehalt liegt bei ca. 6%, die gerinnungsphysiologische Aktivität beträgt ca. 16 IE/mg (218). Die Substanz ist jedoch nicht als einheitlich betrachtet worden. Es könnte sich um eine Vorstufe oder ein Spaltprodukt des Δ -Heparins handeln. Die Substanz gibt - im Gegensatz zu Δ -Heparin - eine positive SCHIFF-Reaktion nach Perjodatbehandlung, was zur Folge haben dürfte, daß die Mastzellen HOTCHKISS positive Granula aufweisen (118).

Schon JORPES und Ma. (35, 44, 226) haben beobachtet, daß der Heparinegehalt verschiedener Gewebe von deren Reichtum an Mastzellen abhängig ist. Sie konnten zeigen, daß die Mastzellen Heparin enthalten. Der starke Einbau von radioaktivem Sulfat in die Mastzellen (146) spricht dafür, daß Heparin hier auch gebildet wird. In der Ultrazentrifuge konnte aus den Mastzellen eine Mikrosomenfraktion isoliert werden, welche aus einem Heparin-Lipoproteinkomplex besteht (227). Die oben beschriebene Heparinmonoschwefelsäure stellt nach JORPES und Ma. (217, 228) eine Vorstufe des höherpolymerisierten Δ -Heparins dar. Mit Hilfe von S^{35} konnten JORPES und Ma. (229) sowie ASBOE - HANSEN (230) nachweisen, daß die bei der Reifung der Mastzellengranula zunehmende Metachromasie auf einer Zunahme des Sulfurierungsgrades des Heparins beruht. Nach den Untersuchungen von WERLE und AMANN (231 - 233) ist es wahrscheinlich, daß der größte Teil des Gewebshistamins, welches in den Mastzellen gespeichert ist, auf Grund seines basischen Charakters mit dem sauren Heparin in Form einer salzartigen Bindung, und zwar als Heparinat, vorliegt (siehe auch YAKYMECHKO, 221).

10. Keratoschwefelsäure

1953 konnten K. MEYER und Ma. (243) aus der Cornea neben der Chondroitinschwefelsäure ein weiteres saures Mucopolysaccharid isolieren, welches sie als Keratoschwefelsäure bezeichneten. Es enthält

N-acetylglucosamin, Galactose und Schwefelsäure in aequimolaren Mengen. MASAMUNE (119, 177) machte ähnliche Beobachtungen und beschrieb ein "Glucidamin", welches N-acetylglucosamin, Galactose und Schwefelsäure in einem molaren Verhältnis von 2:2:1 enthält. Auch WOODIN (128) kommt zu ähnlichen Ergebnissen und bezweifelt die Existenz der von MEYER - CHAFFEE (204) in der Cornea gefundenen Hyaluronschwefelsäure.

Die Keratoschwefelsäure ist wahrscheinlich im Tierkörper weit verbreitet. Der Nucleus pulposus, das an Mucopolysacchariden reichste Organ, dessen Trockensubstanz zu 60% aus Polysaccharid besteht, enthält fast ebensoviel Keratoschwefelsäure wie Chondroitinschwefelsäure (235).

11. Sialinsäure bzw. Neuraminsäure

1936 beobachtete BLIX (236), daß das Submaxillarismucin eine Substanz enthält, welche aus N-acethyl-Hexosamin und einer Polyhydroxynsäure aufgebaut ist, welche später von BLIX und Ma. (237) als Sialinsäure bezeichnet wurde. KLENK (238) isolierte aus normalem Gehirn eine ähnliche Substanz, welche er Neuraminsäure nannte. KLENK - FAILLARD (239) erhielten aus Submaxillarismucin 0,5% kristalline N-acethyl-Neuraminsäure und hoben die enge Verwandtschaft mit der Sialinsäure hervor.

Als Sialinsäure wird heute eine Gruppe verwandter Substanzen bezeichnet, welche sich alle von derselben Grundsubstanz, der Neuraminsäure ableiten (240). Seine Summenformel lautet $C_9H_{17}NO_8$ (184).

Dies konnte durch Synthese der N-acethyl-Neuraminsäure bewiesen werden (241). N-acethyl-Neuraminsäure scheint die Form der im menschlichen Gewebe vorliegenden Sialinsäure zu sein. In anderem tierischen Material scheint eine Glycolylgruppe die Stelle der N-acethyl-Gruppe einzunehmen, oder es liegt eine O-acethyl-Gruppe in Verbindung mit einer N-acethyl-Gruppe bzw. N-glycolyl-Gruppe vor (242). Die Gynaminsäure (243), die Lactaminsäure (244) sowie die Haemataminsäure (245) scheinen mit Neuraminsäure identisch, bzw. von gleicher Grundstruktur zu sein.

Die Sialin- bzw. Neuraminsäure ist in den letzten Jahren auf Grund ihrer weiten Verbreitung und ihrem reichlichen Vorkommen in vielen Organen in den Vordergrund der Diskussion getreten (Siehe hierzu Tabelle 4).

Tabelle 4 :

Der Gehalt verschiedener Glycoproteide an Sialinsäure nach BLIX - WERNER (246).

Submaxillarismucin	12 - 20%
Magen-, Darm- und Trachealschleim	3 - 5%
Mucoproteid und Cervix uteri	10 - 12%
Mucoproteid aus Harn	7 - 9%
Mucoproteid aus Ascites carcinomatosa	7%
Mucoproteid aus Ovarialcysten	1 - 12%
α_2 -Globulin	4 - 5%
Seromuroid	6 - 8%
Saures Glycoproteid aus Plasma	10%
Ovomucin	6 - 10%
Ganglioside aus Gehirn, Milz und Erythrocyten	24%

12. Spreading-Faktor - Hyaluronidase

DURAN - REYNALS (248) machte als erster 1928 die Entdeckung, daß Hodenextrakte die Ausbreitung von Infekten im Gewebe in hohem Maße fördern. Auch Bakterienextrakte (249) sowie Insekten- und Schlangengifte (250) zeigten dieses Spreading-Phaenomen. Die rasche Ausbreitung bestimmter invasiver Infektionen (252) (Erysipel, Gasbrand etc.) fanden dadurch ihre Erklärung. Später konnte dann DURAN - REYNALS (251) gegen den Spreading-Faktor gerichtete Antikörper entdecken und weiter nachweisen, daß auch in der Bindegewebsgrundsubstanz defensive Mechanismen im Sinne einer regulatorischen Permeabilitätseinschränkung zu reagieren vermögen (253). Auch im Plasma wurden Hemmkörper nachgewiesen, welche die Wirkung des Spreading-Faktors blockieren können. MEYER und Ma. (254) sowie CHAIN - DUTHIE (255) gelang dann der Nachweis, daß der Spreading-Faktor

die Hyaluronsäure abzubauen vermag. Das Spreading-Phaenomen wurde damit als eine Enzym-Substrat-Reaktion erkannt. Das aktive Enzym der Extrakte erwies sich als identisch mit Hyaluronidase.

Die Begriffe des Spreading-Faktors und der Hyaluronidase sind jedoch nicht immer identisch. Das Spreading-Phaenomen ist eine biologische Erscheinung, eine Diffusionssteigerung ohne Rücksicht auf den Wirkungsmechanismus. Die Hyaluronidasewirkung ist im Gegensatz dazu eine spezifische Enzym-Substrat-Reaktion. Eine Reihe von Spreading-Faktoren sind in manchen Organen (Magen, Darm, Pankreas, Mamma) und auch im Urin (256) nachgewiesen worden. Auch gewisse Pharmaka, wie Vitamin C und gewisse Azoproteine (257) zeigen Spreading-Faktorwirkung, ebenso wie die Lipoidlösungsmittel Alkohol, Aether und Chloroform (258). SEIFTER (259) konnte beobachten, daß bei Tieren, welchen parenteral Hyaluronidase injiziert wurde, die Hyaluronidaseaktivität schneller als die Spreading-Faktoraktivität aus der Blutbahn verschwindet. Es kommt also in bestimmten Fällen zu einer Dissoziation zwischen der in vitro gemessenen Hyaluronidaseaktivität und der in vivo bestimmten Spreading-Faktoraktion. Es müssen also bei Untersuchungen über den Spreading-Faktor sowohl biologische, als auch enzymatische Methoden zum Nachweis der Aktivität herangezogen werden.

Nach dem Vorschlag von FISHMAN (260) bezeichnet man alle Mucopolysaccharid spaltenden Fermente als Mucasen (siehe Tab. 5). Seit den Untersuchungen von MEYER (261) und HAHN (262) ist bekannt, daß die Hyaluronidase kein einheitliches Enzym ist, sondern ein Enzymkomplex, dessen Einzelkomponenten noch wenig erforscht sind. Daran muß gedacht werden, wenn die Aktivität verschiedener Handelspräparate mit abweichendem Komponentenspektrum miteinander verglichen wird. Die Hyaluronidasen sind im Tier- und Pflanzenreich weit verbreitet. Die Enzyme mikrobiellen und tierischen Ursprungs unterscheiden sich in manchen chemischen Einzelheiten (261).

Tabelle 5:

Klassifizierung der Mucasen nach RICHTERICH (265).

Enzym	Substrat
A. Neutrale Mucasen	
Chitinase	Chitin
B. Saure Mucasen	
Hyaluronidase	Hyaluronidase, Chondroitinschwefelsäure
Lysozin	Bakterielle Polysaccharide
C. Sulfomucasen	
Bakterielle Sulfomucase	Mucoitinsulfat
Heparinase	Heparin

Die Wirkung der Hyaluronidase auf Hyaluronsäure ist komplex. Wahrscheinlich spielen sich dabei voneinander unabhängige Vorgänge ab, eine Depolymerisation und eine Hydrolyse. In beiden Fällen handelt es sich jedoch um eine Sprengung von Glucosamid-Bindungen. RAPPORT und Ma. (263) schlugen daher vor, das Enzym β -Glucosamidase zu nennen. Zu Beginn der Enzymwirkung wird zunächst eine relativ kleine Zahl von Bindungen aufgespalten und dieser Effekt führt vorwiegend zu physikalisch-chemischen Substratveränderungen, wie Zunahme der Viskosität. Mit fortschreitender Hydrolyse treten die physikalischen Veränderungen in den Hintergrund und das Auftreten reduzierender Zuckergruppen charakterisiert die Enzymwirkung. Auf jeden Fall bleibt der Abbau der Hyaluronsäure auf der Stufe von N-acetylglucosamin-Glucuroniden stehen. Die Glucuronid-Bindung wird von Hyaluronidase nicht gespalten, wohl aber von der β -Glucuronidase, welche ubiquitär vorkommt (siehe auch die Übersicht von GIBIAN, 28).

Das natürliche Substrat der Hyaluronidase ist unbekannt. Die meisten Untersuchungen mit dem Enzym wurden an Geweben angestellt, welche keine Hyaluronidase enthalten, jedoch chemisch komplexe Mischsubstanzen darstellen (Knorpel, Knochen, Subcutis, Glaskörper etc.). Es gelang bisher nicht, Hyaluronidase kristallin darzustellen und alle

Handelspräparate sind relativ rohe Extrakte. Die Kinetik der Hyaluronidase ist in mancher Hinsicht abnorm. Nur selten besteht eine lineare Beziehung zwischen Enzymmenge und Aktivität. Dies ist dadurch zu erklären, daß es sich um ein Enzymgemisch handelt. Auch der optimale Enzymbereich schwankt und zeigt manchmal eine flache Kurve oder gar zwei Gipfelpunkte. Im allgemeinen haben die bakteriellen Hyaluronidasen ihr Optimum im sauren, die tierischen Hyaluronidasen im neutralen bis leicht alkalischen Bereich.

Das Studium der Hyaluronidase-Inhibitoren ist kompliziert (264). Man muß zwischen in vivo und in vitro Inhibitoren unterscheiden. Zu den ersteren gehören die Antirheumatica. Es wurde jedoch festgestellt, daß z.B. die Salicylate nur dann eine Enzymhemmung ergeben, wenn ihre Konzentration so hoch ist, daß sie eine Eiweiß fällende Wirkung haben. Unter den in vitro Inhibitoren sind die kompetitiven Hemmkörper zu erwähnen. Zu dieser Gruppe gehören acetylierte und nitrierte Derivate der Hyaluronsäure, Heparin, Dicumarol und Chondroitin. Auch Aurin-Tricarboxylsäure, substituierte Phenole und Gallensäuren geben eine Enzymhemmung. Offenbar haben alle Komponenten eine Hemmwirkung, welche eine oberflächenaktivierende Wirkung besitzen (265) (siehe auch MATHIES, 266).

1933 demonstrierte DURAN - REYNALS (249), daß i.v. injizierte Spreading-Faktorextrakte in relativ kurzer Zeit aus der Blutbahn verschwinden. HOBBY und Ma. (267) beobachteten, daß menschliches Serum Hyaluronidase aus Pneumokokken, Streptokokken und Clostriden zu hemmen vermag. Sie erklären diesen Inhibitoreffekt durch Bindung der Hyaluronsäure an Serumalbumin. Also ein Substrateffekt und keine direkte Enzymwirkung. Die Hemmung von Hyaluronidase durch Serum würde von McLEAN (268) und WATTENBERG - GLICK (269) bestätigt. MATHEWS - DORFMANN (270) zeigten, daß der Inhibitor in den Fraktionen I und III nach COHN lokalisiert ist. Auf diese Weise konnte er in 30 facher Konzentration frei von dem eng assoziierten Coeruloplasmin erhalten werden. Sehr wahrscheinlich handelt es sich um ein Protein. GLICK - SYLVEN (271) nehmen auf Grund ihrer Experimente an, daß der Inhibitor ein Heparin-Proteid-Lipidkomplex ist. SWYER (272) konnte feststellen, daß Heparin in vitro noch in einer Konzentration von 0,0066% die Hyaluronidase völlig ausschaltet.

IV. ZUSAMMENFASSUNG

Im ersten Teil der Arbeit wird über den strukturellen und chemischen Aufbau des kollagenen Bindegewebes berichtet. Es kann nach dem heutigen Stand der Untersuchungen gefolgert werden, daß die quergestreiften Fibrillen aus kleinen Einheiten bestehen, welche durch eine polysaccharidhaltige Kittsubstanz zusammengehalten werden. Die zu kollagenen Bündeln zusammengeleiteten Fibrillen werden von einer gallertigen Grundsubstanz gestützt, welche größere Mengen Mucopolysaccharide enthält. Die Mucopolysaccharidkomponenten des Kittes und der Grundsubstanz sind von unterschiedlicher Zusammensetzung und variieren darüber hinaus in Menge und Aufbau je nach Alter und Gewebe. Es konnte wahrscheinlich gemacht werden, daß die Fähigkeit des nativen Kollagens der Wirkung endogener, trypsinartiger Fermente zu widerstehen, hauptsächlich auf der engen Beziehung zwischen den Proteinen der Bauelemente und den Mucopolysacchariden des Kittes beruht. Mittel, welche die Innigkeit dieser Beziehungen zerstören, steigern die Empfindlichkeit gegenüber trypsinartigen Fermenten und reduzieren die Stabilität des Materials *in vivo*.

Die Grundsubstanz des Bindegewebes stellt keineswegs eine strukturlose, amorphe, interzelluläre Masse dar, sondern weist eine komplizierte, kolloidale Struktur auf. Sie befindet sich in einem Zwischenstadium zwischen Gel und Sol. Als Medium des extravasalen Stoffwechsels, den Zellen einerseits und den Lymph- und Blutgefäßen andererseits, ist sie eine wichtige materielle Grundlage des Stoffwechsels. Ihre durch die große Oberfläche der Kolloide bedingte Hydrophile befähigt sie, Wasser und Salze anzuziehen, zu speichern und in Richtung des Diffusionsgefälles zu verschieben. Damit wird das Bindegewebe zu einem Träger des inneren Milieus und zu einem Regulator der Haemostase. Diese Erkenntnisse konnten in den letzten Jahren durch experimentelle Untersuchungen bewiesen werden.

Im zweiten, speziellen Teil der Arbeit wird über die neueren Untersuchungsergebnisse über die Mucopolysaccharide berichtet, welche - gebunden an Proteine - einen integrierenden, strukturellen Bestand-

teil nicht nur der Grundsubstanz, sondern auch der fibrillären Elemente darstellen. Gerade in den letzten Jahren konnten - nicht zuletzt mit Hilfe der Isotopentechnik - wichtige Einblicke in die Biosynthese und den Metabolismus dieser physiologisch so wichtigen chemischen Verbindungen gewonnen werden. Es konnte gezeigt werden, daß dieselben einen sehr regen Stoffwechsel besitzen, im Gegensatz zu den kollagenen und elastischen Fasern, welche einen nur sehr langsamen Umsatz zeigen. Sie sind somit nicht nur als tote Kittsubstanzen zu betrachten, wie früher vielfach angenommen wurde, sondern führen im Bindegewebe ihr eigenes, sehr aktives Leben und es kann nach dem heutigen Stand der Untersuchungen als durchaus wahrscheinlich angenommen werden, daß sie auch am Aufbau der fibrillären Elemente maßgeblich beteiligt sind. Der Auf-, Um- und Abbau der Mucopolysaccharide, welcher durch Enzyme katalysiert wird und noch weitgehend unbekannt ist, unterliegt hormonellen und wahrscheinlich auch humoralen Regulationen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Wassermann, F.: Chemie und Stoffwechsel von Binde- und Knochengewebe
7.Coll.Ges.Physiol.Chem.;
Springer, Berlin-Heidelberg 1956, S. 1-19
2. Bear, R.S.: Adv.Protein Chem. 7, 69, (1952)
3. Ingelmark, B.E.: Acta anat. (Basel) 6, 193, (1948)
4. Schmitt, F.O.: J.Amer.Leather Chem.Assoc. 39, 430, (1944)
5. Schmitt, F.O.; C.E. Hall u. M.A.Jakus:
J.Cellul.Comp.Physiol. 20, 31, (1942)
6. Wassermann, F.: Erg.Anat.Entw.Gesch. 35, 240, (1956)
7. Wyckoff, R.W.G.: 3. Conf.on Connective Tissue, J.Macy Foundation, New York 1952
8. Wolpers, C.: Arch. Path. Anat. 312, 292, (1944)
9. Wolpers, C.: Leder 1, 3, (1950)
10. Astbury, W.T.: Adventures in molecular biology. The Harvey Lectures.
C.C.Thomas Publ., Springfield (Ill.)
1950 - 1951, S. 3 - 44
11. Wassermann, F.: Anat. Rec. 11, 145, (1951)
12. Rollhäuser, H.: Morph. J. 93, 153, (1952)
13. Wassermann, F. u. L.E.Roth:
Anat.Rec. 121, 455, (1955)
14. Vanamee, P. u. K.R.Porter:
J. exp. Med. 94, 255, (1951)
15. Boedtker, H. u. P.Doty:
J.Amer. Chem. Soc. 77, 248, (1955)

16. Gross, J., J.H.Highberger u. F.O.Schmitt:
Proc.Nat.Acad.Sci. (Washington) 40, 679, (1954)
17. Schmitt, F.O., J.Gross u.J.H.Highberger:
Proc.Nat.Acad.Sci. (Washington) 39, 459, (1953)
18. Schmitt, F.O., J.Gross u.J.H.Highberger:
Exper.Cell.Res.Suppl. 3, 326, (1955)
19. Wassermann, F. u.A.Lindenbaum:
Proc.of the Arden House Conf. on Finestruc-
ture of Tissue, J.Biochem.Biophys.Catology
2, Suppl. 299, (1956)
20. Wassermann, F. u.A.M.Brues:
Zit. bei Wassermann, F.:
Chemie und Stoffwechsel von Binde- und Kno-
chengewebe, 7.Coll.Ges.Physiol.Chem.,
Springer, Berlin-Heidelberg 1956,
S. 1 - 19. Lit.Stelle No. 41
21. Jackson, S.F.: Proc.Roy.Soc. (London),
Ser. B. 142, 536, (1954)
22. Martin, A.V.W.:Biochem.Biophys. Acta 10, 42, (1953)
23. Wassermann, F.: Amer.J.Anat. 94, 399, (1954)
24. Wassermann, F. u.L.Kubota:
Proc. of the Arden House Conf. on Fine
structure of Tissue. - J.Biochem.Biophys.Cytology
2, Suppl. 67, (1956)
25. Dorfman, A. u.M.B.Mathews:
Annual Rev. Physiol. 18, 69, (1956)
26. Grassmann, W.: Chemie und Stoffwechsel von Binde- und
Knochengewebe.
7.Coll.Ges.Physiol.Chem., Springer,
Berlin-Heidelberg 1956, S. 21

27. Meyer, K.: In Asboe-Hansen:
Connective Tissue in Health and Disease,
Copenhagen 1954, S. 54-69
28. Gibian, H.: Erg.Enzymol. 13, 1, (1954)
29. Gersh, I.: 2. Conf.on Connective Tissue.
J.Macy Foundation, New York 1952
30. Gersh, I. u. H.R.Catchpole:
Amer.J.Anat. 85, 457, (1949)
31. Heringa, G.C.: Exper.Cell Res.Suppl. 1, 366, (1949)
32. Bunting, H.: Ann.N.Y.Acad.Sci. 52, 977, (1950)
33. Dempsey, E.W., H.Bunting, M.Singer u. G.D.Wislocki:
Anat.Rec. 98, 417, (1947)
34. Highberger, J.H., J.Gross u. F.O.Schmitt:
Proc.Nat.Acad.Sci. (Washington) 37, 286, (1951)
35. Holmgren, H.: Zschr.Mikrosk.Anat.Forsch. 47, 489, (1940)
36. Sylvén, B.: Acta chir.Scand. 86, Suppl. 66, (1941)
37. Pahlke, G.: Zschr.Zellforsch. 39, 421, (1954)
38. Schwarz, W.: Zschr.Zellforsch. 38, 26, 78, (1952)
39. Altschuler, Ch.H. u. D.M.Angevine:
Amer.J.Path. 27, 141, (1951)
40. Duran-Reynals, F., F.H.Bunting u. G.v.Wagenen:
Ann.N.Y.Acad.Sci. 52, 1006, (1950)
41. Mancini, R.E. u. E.S. de Lustig:
J.Nat.Cancer Inst. 10, 1371, (1950)
42. Grossfeld, H., K.Meyer u. G.Goodman:
Proc.Soc.Exp.Biol. Med. 88, 31, (1955)
43. Meyer, K.: Amer.J. Med. 1, 676, (1946)

44. Jorpes, E., H. Holmgren u. O. Wilander:
Zschr. mikrosk. anat. Forsch. 42, 279 (1937)
45. Asboe-Hansen, G.: Bull. Hist. appl. Physiol. 27, 5, (1950)
46. Jorpes, E.: Chemie und Stoffwechsel von Binde- und Knorpelgewebe.
7. Coll. Ges. Physiol. Chem.;
Springer, Berlin-Heidelberg 1956, S. 53
47. Bensley, S.H.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 52, 983, (1950)
48. Morrione, T.G.: J. exp. Med. 96, 107, (1952)
49. Linke, K.W.: Zschr. Zellforsch. 42, 331, (1955)
50. Burton, D., D.A. Hall, M.E. Keech, R. Reed, H. Saxl, R.E. Turnbridge u. M.J. Wood:
Nature, 176, 966, (1955)
51. Hall, D.A., M.K. Keech, R. Reed, H. Saxl, R.E. Turnbridge, M.J. Wood: J. Gerontol. 10, 388, (1955)
52. Loeven, W.A.: Acta anat. (Basel) 24, 217, (1955)
53. Tustanovski, A.A., A.L. Zaides, G.V. Orlovskaya u. A.N. Mikhailov: Doklady Akad. Nauk SSSR 97, 121 (1954)
54. Grassmann, W. u. K. Kühn:
Z. Physiol. Chem. 301, 1, (1955)
55. Studer, A.: Experientia 10, 148, (1954)
56. Cramer, W. u. W.L. Simpson:
Cancer Res. 4, 601, (1944)
57. Olsen, N.S. u. R.O. Smith:
Amer. J. Physiol. 159, 583, (1949)
58. Larsson, W.G. u. B. Sylvén:
Cancer Res. 7, 676, 680, (1947) - 8, 449, (1948)

59. Becher, H., K.Hoegen, G.Pferfferkorn:
Acta anat. (Basel) 20, 105, (1954)
60. Robinson, F.A. u. M.L.Watson:
Anat.Rec. 114, 383, (1952)
61. Neuberger, A., I.C.Peronne u. H.G.B.Slack:
Biochem.J. 49, 199, (1951)
62. Neuberger, A. u.H.G.B.Slack:
Biochem.J. 53, 47, (1953)
63. Harkness, M.L.R. u, R.D.Harkness:
J.Physiol. 123, 492, (1954)
64. Harkness, M.L.R., R.D.Harkness u. J.E.Santler:
J.Physiol. 125, 51, (1954)
65. Morrione, T.G.: Amer.J.Path 25, 273, (1949)
66. Glynn, L.E. u. C.A.Reading:
Chemie und Stoffwechsel des Binde- und
Knochengewebes
7. Coll.Ges.Physiol.Chem.;
Springer, Berlin-Heidelberg 1956, S.54-72
67. Clifton, E.E. u. G.R.Downie:
Proc.Soc.Biol. Med. 73, 559, (1950)
68. Consden, R., L.E.Glynn u. W.M.Stannier:
Biochem.J. 55, 248, (1953)
69. Bowes, J.H., R.G.Elliott u. J.A.Moss:
Biochem.J. 61, 143, (1955)
70. Consden, R. u. R.Bird:
Nature 173, 996, (1954)
71. Partridge, S.M.: Biochem.J. 43, 387, (1948)
72. De Ballis, R., I.Mandl, J.D.MacLennan u. E.L.Howes:
Nature 174, 1191, (1954)

73. Mandl, I., J.D. MacLennan u. E.L. Howes:
J.Clin. Invest. 32, 1323, (1953)
74. Gross, J.: Ann.N.Y.Acad.Sci. 56, 674, (1953)
75. Keech, M.K.: Ann.Rheum.Dis. 14, 19, (1955)
76. Bowes, J.H. u. R.H. Kenten:
Biochem.J. 43, 365, (1948)
77. Harkness, R.D., A.M. Marko, H.M. Muir u. A. Neuberger:
Biochem.J. 56, 558, (1954)
78. Bichat, M.R.X.: Traité des membranes en général et de di-
verse membranes en particulier
Paris, Richard 1799
79. Müller, J.: Ann.Pharm. (Heidelberg) 21, 277, (1837)
80. Virchow, R.L.K.: Die Cellularpathologie in ihrer Begründung
und physiologische und pathologische Gewebs-
lehre.
Hirschwald, Berlin 1858
81. Fleming, W.: Arch.mikrosk.Anat. 12, 391, (1876)
82. Schade, H.: Die physikalische Chemie in der inneren
Medizin.
Steinkopff, Dresden-Leipzig 1923
83. Eppinger, H.: Die Permeabilitätspathologie.
Springer, Wien 1949
84. Klinge, F.: Erg.allg.Path.pathol.Anat. 27, 1, (1933)
85. Klemperer, P., A.D. Pollack u. G. Baehr:
J.Amer.Med.Ass. 119, 331, (1942)
86. Richterich, R.: Enzympathologie,
Springer, Berlin-Heidelberg 1958, S. 323
87. Jackson, D.S.: Biochem.J. 54, 638, 693, (1953)
88. Jackson, D.S.: Biochem.J. 56, 699, (1954)

89. Holder, E.J.: Desirable factors in surgical sutures.
W.Blackwood, London 1946
90. Dickens, F. u. M.Weil-Malherbe:
Nature 138, 125, (1936)
91. Lipmann, F.: Symposium on Respiratory Enzymes.
University Press Wisconsin, Madison 1942
92. Fleckenstein, A.: Arch.Exp.Path.Pharmakol. 203, 151, (1944)
93. Calkins, E., M.Soodak u. W.Bauer:
New. England J.Med. 253, 865, (1955)
94. Slack, H.G.B.: Ann.Rheum.Dis. 14, 238, (1955)
95. Dorfman, A.: Pharmacol. Rev. 7, 1, (1955)
96. Neuberger, A.: Expos.ann.Biochim.méd. 16, 67, (1954)
97. Dettmer, N.: Zschr.Zellforsch. 37, 89, (1952)
98. Schwarz, W. u. N.Dettmer:
Arch.Path.Anat. 323, 243, (1953)
99. Schultz, A.: Arch.Path.Anat. 239, 415, (1922)
100. Ssolowjew, A.: Arch.Path.Anat. 241, 1, (1923)
101. Ssolowjew, A.: Arch.Path.Anat. 261, 261, (1926)
102. Baló, J. u. I.Banga:
Biochem.J. 46, 348, (1950)
103. Baló, J. u. I.Banga:
Schweiz.Zschr.Path. 12, 350, (1949)
104. Baló, J. u. I.Banga:
Acta Physiol. (Budapest) 25, Suppl.1, (1951)
105. Banga, I.: Zschr.Vit.Horm.Fermentforsch. 4, 49, (1951)
106. Banga, I. ; J.Baló u. N.Nowotny:
Zschr.wiss.Horm.Fermentforsch. 2, 415, (1949)

107. Schwarz, W.: Arch.Path.Anat. 324, 612, (1954)
108. Gross, J.: J.Geront. 7, No. 4, (1952)
109. Linke, K.W.: Diss.Freie Universität Berlin 1954
110. Aschoff, L.: Beiheft Med.Klinik 10, 1, (1914)
111. Frey, W.: Zschr.Neurol. 167, 237, (1939)
112. Rinehart, J.F.+Ma.:
AMA Arch.Path. 52, 189, (1951)
113. Lennox, B. + Ma.:
J.Path.Bact. 64, 865, (1952)
114. Loewi, G.: J.Path.Bact. 65, 381, (1953)
115. Stacey, M.: Adv. Carbohydrate Chem. 2, 161, (1946)
116. Kent, P.W. u. M.W.Witehouse:
Biochemistry of amino sugars.
Butterworth, London 1955
117. Stacey, M.: Disc.Faraday Soc. 13, 245, (1953)
118. Jorpes, E.: Chemie und Stoffwechsel von Binde- und
Knochengewebe.
7. Coll.Ges.Physiol.Chem.
Springer, Berlin-Heidelberg 1956, S.25-51
119. Masamune, H.: Conf.et Rapports,
3.Congr.internat.de Biochimie.
Bruxelles 1955, Liège 1956
120. Grassmann, W. u. H.S hleich:
Biochem.Z. 277, 320, (1935)
121. Meyer, K. u. E.Chaffee:
J.Biol.Chem. 138, 491, (1941)
122. Pearce, R.H. u.E.M.Watson:
Amer.J.Clin.Path. 17, 507, (1947)
19, 442, (1949)

123. Pearce, R.H. u. E.M.Watson:
Canad.J.Res.Sect.E. 27, 43, (1949)
124. Bowes, J.H. u. R.H.Kenten:
Biochem.J. 43, 358, (1948)
125. Banga, J. u. J.Baló:
Acta Physiol.Hung. (Budapest) 6, 235, (1954)
126. Glegg, R.E., D.Eidinger u.C.B.Lebland:
Science 120, 839, (1956)
127. Glegg, R.E. u. D.Eidinger:
Arch.Biochem.Biophys. 55, 19, (1955)
128. Woodin, A.M.: Biochem.J. 51, 319, (1952)
129. Gross, J., J.H.Highberger u. F.O.Schmitt:
J.Biol.Chem. 144, 353, (1952)
130. Jackson, D.S.: In J.T.Randall:
Nature and structure of collagen.
Butterworth, London 1953
131. Meyer, K.: Disc.Faraday Soc. 13, 271, (1953)
132. Ogston, A.G. u. J.E.Stanier:
Disc.Faraday Soc. 13, 275, (1953)
133. Gorter, E. u. L.Nanninga:
Disc.Faraday Soc. 13, 205, (1953)
134. Woodin, A.M.: Disc.Faraday Soc. 13, 281, (1953)
135. Shatton, J.W. u. M.Schubert:
J.biol.Chem. 211, 565, (1954)
136. Einbinder, J. u. M.Schubert:
J.biol.Chem. 185, 725, (1950)
191, 591, (1951)
137. Neuberger, A.: Biochem.J. 32, 1435, (1938)

138. Jorpes, E. u. P.Edmann:
Acta physiol. Scand. 1, 41, (1941)
139. Schultze, H.E.: Über klinisch interessante, körpereigene Polysaccharidverbindungen.
Scand.J.Clin.Lab.Invest. 10, Suppl. 31, 135 (1958)
140. Morgan, W.T.: Proc.Roy.Soc.Med. 46, 783, (1953)
141. Kabat, E.A.: Bact.Rev. 13, 189, (1949)
142. Bray, H.G. u. M.Stacey:
Adv.Carbohydrate Chem. 4, 37, (1947)
143. Morgan, W.T.: Experientia 3, 257, (1947)
144. Morgan, W.T.: Blood Group Substances, Polysaccharides in Biology
Trans.of the 1.Conf.1955, J.Macy Foundation, New York 1956
145. Kabat, E.A.: Blood Group Substances, there Chemistry and Immunochemistry
Acad.Press Inc.Publ., New York 1956
146. Boström, H. u. E.Jorpes:
Experientia 10, 392, (1954)
147. Schiller, S., M.B.Mathews, L.Goldfaber, J.Ludowieg u. A. Dorfman:
J.biol.Chem. 212, 531, (1955)
148. Schiller, S., M.B.Mathews, J.A.Cifonelli u. A.Dorfman:
J.biol.chem. 218, 139, (1956)
149. Boström, H., L.Rodén u. A.Vestermark:
Nature 176, 601, (1955)
150. Robbins, P.W. u. F.Lipmann:
J.Amer.Chem.Soc. 78, 2652, (1956)
151. Cabib, E., L.F.Leloir u. C.E.Cardini:
J.Biol.Chem. 203, 1055, (1953)

152. Storey, I.D.E. u. G.J.Dutton:
Biochem.J. 59, 279, (1955)
153. Glaser, L. u. D.H. Brown:
Proc.Nat.Acad.Sci. 41, 253, (1955)
154. Cardini, D.E. u. E.F.Leloir:
Biochem.Biophys.Acta 12, 15, (1953)
155. Lowther, D.A. u. A.J.Rogers:
Biochem.J. 62, 304, (1955)
156. Davidsch, E.A. u. K. Meyer:
J.biol.Chem. 211, 605, (1954)
157. Dziewiatkowski, D.D.:
J.biol.Chem. 76, 596, (1951)
158. Layton, L.L.: Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 76, 596, (1951)
159. Boström, H. u. E.Odeblad:
Ark.Kemi 6, 39, (1953)
160. Walton, K.W. u. C.R.Rickets:
Brit.J.Exp.Path. 35, 227, (1954)
161. Sylvéén, B. u. H.Malmgren:
Scand.J.Clin.Lab.Invest. 1, 413, (1952)
162. Sylvéén, B.: Quart.J.Microsc.Sci. 95, 327, (1954)
163. Mc.Manus, J.F.A.: Nature 158, 202, (1946)
164. Hotchkiss, R.D.A.: Arch.Biochem. 16, 131, (1948)
165. Fischer, C. u. C.Boedeker:
Ann. 117, 111, (1861)
166. Krukenberg, C.F.W.:
Zschr.Biol. 20, 307, (1884)
167. Mörner, C.Th.: Scand.Arch.Physiol. 1, 210, (1889)
168. Levenne, P.A.: J.biol.Chem. 18, 237, (1914)

169. Meyer, K. u. J.W.Palmer:
J. biol. Chem. 114, 689, (1936)
170. Meyer, K.: Cold Spring Harbour
Symp.quant. Biol. 6, 91, (1938)
171. Schmiedeberg, O.:
Arch.exp.Path.Pharmakol. 28, 355, (1891)
172. Levenne, P.A. u. Ma.:
J.biol.Chem. 15, 69, 115, (1913)
20, 436, (1915)
173. Hebting, J.: Biochem.Z. 63, 353, (1914)
174. Levenne, P.A. u. Ma.:
J.biol.Chem. 45, 467, (1921)
175. Levenne, P.A.: J.biol.Chem. 140, 267, (1941)
176. Wolfrom, M.L., R.K.Madison u. M.J.Cron:
J.Amer.Chem.Soc. 74, 1491, (1952)
177. Masamune, H. u. Ma.:
Tohoku J. Exp. Med. 55, 47, (1951)
178. Meyer, K. u. E.A.Davidson:
J.Amer.Chem.Soc. 76, 5686, (1954)
179. Bray, H.G., J.E.Gregory u. M.Stacey:
Biochem.J. 38, 142, (1944)
180. Meyer, K.H., M.E.Odier u. A.E.Siegrist:
Helv.chim.Acta 31, 1400, (1948)
181. Blix, G. u. O.Snellman:
Ark.Kemi Mineral.Geol. 19A, No. 32, (1945)
182. Fellig, J.: In Thannhausers Lehrbuch des Stoffwechsels und
der Stoffwechselkrankheiten, 2.Aufl.,
G.Thieme-Stuttgart, 1957, S. 500

183. Jorpes, E.: Chemie und Stoffwechsel des Binde- und Knochengewebes
7. Coll.Ges.Physiol.Chem.,
Springer, Berlin-Heidelberg 1956, S. 52
184. Blix, G.: Mucopolysaccharides and Glykoproteins
Scand.J.Clin.Labor.Invest 10, Suppl.31, 128,
(1958)
185. Meyer, K. u. E.M.Smyth:
J.biol.Chem. 119, 507, (1937)
186. Skanse, B. u. L.Sundblad:
Acta Physiol. Scand. 6, 37, (1943)
187. Meyer, K. u. M.M.Rapport:
Science 113, 596, (1951)
188. Meyer, K., E.A.Davidson, A.Linker u. P.Hoffmann:
Biochem.Biophys.Acta 21, 506, (1956)
189. Hoffmann, P., A.Linker u. K.Meyer:
Arch.Biochem.Biophys. 69, 435, (1957)
190. Meyer, K. u. J.W.Palmer:
J.biol.Chem. 107, 629, (1934)
191. Gibian, H.: Angew. Chem. 63, 105, (1951)
192. Kaye, M.A.G. u. M.Stacey:
Biochem.J. 46, XIII, (1950)
193. Weissmann, B. u. K.Meyer:
J.Amer.Chem.Soc. 76, 1753, (1954)
194. Jeanloz, R.: Experientia 6, 52 (1950)
195. Weissmann, B. u. K.Meyer:
J.Amer.Chem.Soc. 74, 4729, (1952)
196. Meyer, K.H. u. J.Fellig:
Experientia 6, 186, (1950)

197. Jeanloz, R. u. E. Forchielli:
J. biol. Chem. 186, 495, (1950)
198. Gardell, S., A. H. Gordon u. S. Åqvist:
Acta chem. Scand. 4, 907, (1950)
199. Meyer, K. H., J. Fellig u. E. H. Fischer:
Helv. chim. Acta 34, 939, (1951)
200. Levenne, P. A. u. Ma.:
J. biol. Chem. 25, 511, (1916)
26, 373, (1916)
36, 105, (1918)
201. Webster, D. R. u. S. A. Komarow:
J. biol. Chem. 96, 133, (1932)
202. Komarow, S. A.: J. biol. Chem. 109, 177, (1935)
203. Meyer, K., E. M. Smyth u. J. W. Palmer:
J. biol. Chem. 119, 73, (1937)
204. Meyer, K. u. E. Chaffee:
Amer. J. Ophthalm. 23, 1320, (1940)
205. Wolf from, M. L. u. F. A. H. Rice:
J. Amer. Chem. Soc. 69, 1833, (1947)
206. Jeanloz, R.: Conf. et Rapports.
3. Congr. internat. Biochimie Bruxelles 1955.
Liège 1956, S. 65
207. McLean, J.: Amer. J. Physiol. 41, 250, (1916)
208. Howell, W. H. u. E. Holt:
Amer. J. Physiol. 47, 328, (1918)
209. Howell, W. H.: Amer. J. Physiol. 71, 533, (1924)
210. Fischer, A. u. A. Schmitz:
Z. Physiol. Chem. 216, 264, 274, (1933)
211. Jorpes, E.: Biochem. J. 29, 1817, (1935)

212. Jorpes, E. u. S. Bergström:
Z. Physiol. Chem. 244, 263, (1936)
213. Wolfrom, M.S. u. F.A.H. Rice:
J. Amer. Chem. Soc. 68, 532, (1946)
214. Meyer, K.H. u. D.E. Schwarz:
Helv. chim. Acta 33, 1651, (1950)
215. Jorpes, E. u. H. Boström u. V. Mutt:
J. biol. Chem. 183, 607, (1950)
216. Jaques, L.B., E.T. Waters u. A.F. Charles:
J. biol. Chem. 144, 229, (1942)
217. Jorpes, E. u. S. Gardell:
J. biol. Chem. 176, 267, (1948)
218. Marbet, R. u. A. Winterstein:
Experientia 8, 41, (1952)
219. Marbet, R. u. A. Winterstein:
Helv. Physiol. Pharmacol. Acta 9, 24, (1951)
220. Walton, K.W.: Brit. Med. Bull. 11, 62, (1955)
221. Yakymchko, M.: Die physiologische Bedeutung des körpereigenen Heparins.
Diss. München 1956
222. Marbet, R. u. A. Winterstein:
Helv. chim. Acta 34, 2311, (1951)
223. Wolfrom, M.L., R. Montgomery, J.V. Karabinos u. P. Rathgeb:
J. Amer. Chem. Soc. 72, 5796, (1950)
224. Jensen, R., O. Snellman u. B. Sylvén:
J. biol. Chem. 174, 265, (1948)
225. Yamashina, I.: Acta chem. Scand. 8, 1316, (1954)
226. Wilander, O. u. H. Holmgren:
Zschr. mikrosk. anat. Forsch. 42, 242, (1937)

227. Julén, C., O.Snellman u. B.Sylvén:
Acta physiol.Scand. 19, 289, (1950)
228. Jorpes, E., B.Werner u. B.Asberg:
J.biol.Chem. 176, 277, (1948)
229. Jorpes, E., E.Odeblad u. H.Bergström:
Acta haematol. 9, 273, (1953)
230. Asboe-Hansen, G.:
Cancer Res. 13, 587, (1953)
231. Werle, E. u. R.Amann:
Naturwiss. 42, 583, (1955)
232. Amann, R. u. E.Werle:
Klin.Wschr. 34, 207, (1956)
233. Werle, E. u. R.Amann:
Klin.Wschr. 34, 624, (1956)
234. Meyer, K., A.Linker, E.A.Davidson u. B.Weissmann:
J.biol.Chem. 205, 611, (1953)
235. Gardell, S. u. R.Rastgeldi:
Acta chem.Scand. 8, 362, (1954)
236. Blix, G.:
Z.Physiol.Chem. 240, 43, (1936)
237. Blix, G., L.Svennerholm u. I.Werner:
Acta chem.Scand. 6, 358, (1952)
238. Klenk, E.:
Z.Physiol.Chem. 268, 50, (1941)
239. Klenk, E. u. H.Faillard:
Z.Physiol.Chem. 298, 230, (1954)
240. Blix, G., A.Gottschalk u.E.Klenk:
Nature 179, 1088, (1957)
241. Cornforth, J.W., M.E.Daines u. A.Göttchalk:
Proc.Chem.Soc. 25, (1957)

242. Blix, G., E.Lindberg, L.Odin u. I.Werner:
Acta Soz.Med.Uppsala 61, 1, (1956)
243. György, P., G.A.Braun u. J.R.E.Hoover:
Arch.Biochem.Biophys. 47, 216, (1953)
244. Kuhn, R.u. R.Brossmer:
Chem.Ber. 87, 123, (1954)
245. Yamakawa, T. u. S.Suzuki:
J.Biochem. (Japan) 38, 199, (1951)
246. Blix, G. u. I.Werner:
Bull.Soc.Chim.Belg. 65, 202, (1956)
247. Kent, P.W.: Recent Developments in the Biochemistry of
Mucosubstances.
Scand.J.Clin.Labor.Invest. 10, Suppl. 31,
166, (1958)
248. Duran-Reynals, F.: C.R.Soc.Biol. 99, 6, (1928)
249. Duran-Reynals, F.: J.exp.Med. 58, 161, (1933)
250. Duran-Reynals, F.: J.exp.Med. 69, 69, (1939)
251. Duran-Reynals, F.: J.exp.Med. 55, 703, (1932)
252. Duran-Reynals, F.: Bact.Rev. 6, 197, (1942)
253. Duran-Reynals, F.; u. E.Estrada:
Yale J.Biol.Med. 13, 217, (1940)
254. Meyer, K., R.Dubos u. E.M.Smyth:
J.biol.Chem. 118, 71, (1937)
255. Chain, E. u. E.S.Duthie:
Brit.J.exp.Path. 21, 324, (1940)
256. Christensen, J.: Nature 142, 36, (1938)
257. Claude, A.: J.exp.Med. 62, 229, (1935)
258. Day, D.T.: J.Path.Bact. 60, 150, (1949)

259. Seifter, J.: Ann.New York Acad.Sci. 52, 1141, (1950)
260. Fishman, W.H.: In "The Enzymes " von J.B.Sumner u.
K. Myrbäck.
Acad.Press. New York 1951, Vol.I/2, S.769
261. Meyer, K. u. M.M.Rapport:
Adv. Enzymol. 13, 199, (1952)
262. Hahn, L.: Biochem.Z. 318, 123, 138, (1947)
263. Rapport, M.M., K.Meyer u. A.Linker:
J.Amer.Chem.Soc. 73, 2416, (1951)
264. Mathews, M.B. u. A.Dorfman:
Physiol.Rev. 35, 381, (1955)
265. Richterich, R.: Enzymopathologie,
Springer, Berlin-Heidelberg 1958, S. 326
266. Mathies, H.: Med.Klinik 52, 1676, (1957)
267. Hobby, G. u. Ma.:
J. exp. Med. 73, 109, (1941)
268. McLean, J.: J.Path.Bact. 54, 284, (1942)
269. Wattenberg, L.W. u. D.Glick:
Arch.Biochem. 35, 290, (1952)
270. Mathews, M.B. u. A.Dorfman:
In Asboe-Hansen, G.:
Connective Tissue in Health and Disease
Munksgaard, Copenhagen 1954, S. 113
271. Glick, D. u. Ma.:
Proc.Soc.exp.Biol.Med. 71, 412, (1949)
272. Swyer, G.J.M.: Biochem.J. 42, 32, (1948)

Am Ende der Arbeit möchte ich Herrn Professor Dr. W. SEITZ meinen Dank für die Überlassung des Themas aussprechen. Herrn Dr. H. GASTPAR danke ich im besonderen für die Hinweise und die große Hilfe, welche er mir bei der Problemstellung, der umfangreichen Literatursammlung und der Zusammenstellung der Dissertation zuteil werden ließ.

L E B E N S L A U F

Ich wurde am 27. Dezember 1915 in Rozyska (Ukraine) geboren, wo ich auch die Volksschule besuchte. Nach Beendigung der Mittelschulunterrichtung in Ternopil legte ich die Reifeprüfung im Jahre 1938 ab. Vom Jahre 1940 - 1944 studierte ich Medizin in Lemberg. Mein Studium wurde jedoch durch den Krieg für zwei Jahre unterbrochen. Ende des Jahres 1944 flüchtete ich aus politischen und religiösen Gründen nach Deutschland und setzte mein Medizinstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität, München, fort. Kurz vor dem Staatsexamen wanderte ich nach USA aus, wo ich bis 1955 lebte. Ende 1955 kehrte ich nach München zurück, um mein Medizinstudium wieder aufzunehmen und zu beenden. Im Januar 1959 legte ich das ärztliche Staatsexamen an der Ludwig - Maximilians - Universität, München, ab.

